

VELDBIOASSAYS

VELDBIOASSAYS

Ontwikkeling van een richtlijn voor veldbioassays met watervlooien en waterplanten voor het aantonen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater

Frank M.W. de Jong¹

John W. Deneer²

Wil L.M. Tamis¹

¹Centrum voor Milieukunde

Universiteit Leiden

Postbus 9518

2300 RA Leiden

²Alterra

Wageningen UR

Postbus 47

6700 AA Wageningen

CML rapport 150

Sectie Ecosystemen en Milieukwaliteit

Alterra rapport 061

Afdeling Water en Milieu

Een onderzoek in opdracht van de directie Drinkwater, Water en Landbouw, Ministerie van VROM.

Dit rapport kan op de volgende wijze worden besteld:

– telefonisch: 071-5277485

– schriftelijk: Bibliotheek CML, Postbus 9518, 2300 RA Leiden

– per fax: 071-5275587

Hierbij graag duidelijk rapportnummer, naam besteller en verzendadres aangeven

ISBN: 90-5191-128-9

Druk: Universitair Grafisch Bedrijf, Leiden

© Centrum voor Milieukunde, Leiden, 2000.

Inhoudsopgave

	Dankwoord	
I.	Samenvatting	vii
1.	Inleiding	1
2.	Werkwijze	3
3.	Stappenplan	5
3.1	Stap 1: Doelbepaling	5
3.2	Stap 2: Specificatie	8
3.3	Stap 3: Uitvoering	14
3.4	Stap 4: Interpretatie	16
4.	Voorbeelduitwerking en praktijkervaringen	21
4.1	Voorbeeld van toepassing van de methodiek op de Bommelerwaard	21
4.2	Voorbeeld van de toepassing in de Hogeveense polder en de Haarlemmermeerpolder	23
4.3	Praktijkervaringen	28
5.	Discussie, conclusies & aanbevelingen	31
5.1	Discussie	31
5.2	Conclusies	33
5.3	Aanbevelingen	34

Bijlagen 35

1.	Workshop	35
2.	Stappenplan	37
2.1	Achtergrond stappenplan	37
2.2	Overzichtslst gewassen	42
2.3	Evaluatieformulier	44
2.4	Enkele aspecten over chemische metingen	45
3.	Protocollen	47
3.1	Watervlooiën	47
3.2	Kroos	50
4.	Karakterisering voorbeeldgebied de Bommelerwaard	55
5.	Resultaten veldexperimenten	61
6.	Interviews	77
7.	Mesocosmexperiment	81
8.	Samenvatting praktijkervaringen	83

Literatuur 87

Dankwoord

Bij de uitvoering van het onderzoek hebben wij van verschillende kanten medewerking ontvangen. In de eerste plaats willen we de begeleidingcommissie van het project bedanken voor de waardevolle kanttekeningen en suggesties. De begeleidingscommissie bestond uit: S. van Breukelen (Hoogheemraadschap van Rijnland), T.C.M. Brock (Alterra), M.J. Greve (Ministerie VROM), T. Ietswaart (RIVM, M.A.A.J. Kamps-Mulder (RIZA) & M. Talsma (STOWA). Verder willen wij de verschillende boeren in de Hogeveense en de Lageveense polder en in de Haarlemmermeerpolder noemen, die zonder uitzondering toestemming verleenden voor het uitvoeren van de veldexperimenten. Verder zijn wij bijzonder dank verschuldigd aan de heer Muller van het LBO die ons door de Hogeveense polder leidde en zijn kennis van het gebied met ons deelde. Voor de Lageveense polder geldt hetzelfde voor de heer van Eijk (veehouder) en voor de Haarlemmermeerpolder voor de heer Sloof (Waterschap Groot Haarlemmermeer). Het Hoogheemraadschap van Rijnland voerde de nutriënten analyses uit en stelde fysisch-chemische gegevens beschikbaar. De heer Rotteveel van het RIZA bedanken wij voor het beschikbaar stellen van de watervlooiën en de heer Lentje van het IRI voor het beschikbaar stellen van kroos. Graag bedanken wij tot slot Rob van der Poll voor zijn belangrijke bijdrage bij de uitvoering van het veldwerk en het uitwerken van de resultaten.

Frank de Jong
John Deneer
Wil Tamis

April 2000

VELDBIOASSAYS

Ontwikkeling van een richtlijn voor veldbioassays met watervlooiën en waterplanten voor het aantonen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater.

SAMENVATTING

Uit metingen van het voorkomen van landbouwbestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater blijkt dat deze middelen op veel plaatsen regelmatig in het water worden aangetroffen. Op de helft van de locaties in de regionale wateren wordt hierbij ook de norm van één of meer stoffen (het MTR) overschreden. Vanwege de grote variatie in het voorkomen van middelen, middelengroepen, tijdstip en duur van blootstelling etc. is het niet mogelijk om altijd en overal alle middelen te meten. Het toepassen van veldbioassays zou daarom een belangrijke rol kunnen spelen bij het aantonen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater. Bioassays zijn gevoelig voor groepen van middelen, geven een beeld van de blootstelling gedurende een bepaalde periode en geven direct aan dat er ook blootstelling van organismen heeft plaatsgevonden.

Op dit moment worden bioassays bij de regionale waterkwaliteitsbeheerders nog slechts op beperkte schaal toegepast. In dit rapport wordt aangegeven wanneer en waar het uitvoeren van veldbioassays zinvol is, en hoe de resultaten vervolgens moeten worden geïnterpreteerd. Doel hiervan is het effectief inzetten van veldbioassays te bevorderen.

In het rapport is een procedure opgesteld, waarbij de volgende stappen worden doorlopen:

1. **Doelbepaling**
Voordat überhaupt met bioassays wordt begonnen is het noodzakelijk dat eerst het doel waarvoor ze worden ingezet duidelijk wordt omschreven. Op deze wijze kunnen achteraf de resultaten ook worden geïnterpreteerd in relatie tot dit doel. Bij het omschrijven van de doelstelling kan ook blijken dat het in een specifieke situatie niet zinvol is om bioassays in te zetten, maar bijvoorbeeld het direct uitvoeren van chemische meting veel effectiever is.
2. **Specificatie**
Als besloten is om in principe bioassays toe te passen, kan aan de hand van eigenschappen van het betreffende gebied, de aanwezige gewassen en de periode worden gespecificeerd of er effecten in de bioassay te verwachten zijn. De procedure specificeert of het zinvol is om een bioassay in te zetten en welke bioassay er moet worden ingezet.
3. **Uitvoering**
Wanneer uit stap twee is gebleken dat het zinvol is om een bioassay uit te voeren, wordt vervolgens bekeken of de bioassay onder de ter plekke heersende omstandigheden kan worden uitgevoerd, dat wil zeggen dat de overige omstandigheden de (zinvolle) uitvoering van de bioassay toelaten. Ook worden in deze stap protocollen voor de bioassays met watervlooiën en waterplanten gegeven en wordt ingegaan op de keuze van de monsterpunten. Voor de waterplanten is een veldtoets met kroos uitgewerkt. Deze toets is echter nog in ontwikkeling en zal mogelijk door een andere waterplantentoets vervangen moeten worden.
4. **Interpretatie**
Tot slot wordt ingegaan op de interpretatie van de resultaten van de bioassays en op vervolg acties. Hierbij komt de statistische interpretatie van de gevonden effecten aan de orde en worden vuistregels geformuleerd. Daarnaast wordt aangegeven welke stoffen of

stofgroepen waarschijnlijk verantwoordelijk zijn voor de aangetroffen effecten en waar de chemische metingen zich op zouden moeten richten.

Tot slot wordt in het rapport het stappenplan toegepast op enkele voorbeeldsituaties en worden praktijkervaringen behandeld. Hieruit blijkt dat het stappenplan direct aangeeft of het zinvol is om de bioassays in de betreffende periode en het betreffende gebied uit te voeren. Voor wat betreft de veldbioassay met watervlooien geldt dat deze met name in glastuinbouwgebieden succesvol is toegepast en tot duidelijke resultaten leidt. In andere gebieden zijn de resultaten niet altijd zo duidelijk. Het toepassen van het stappenplan zal hier naar verwachting verbetering in aanbrengen.

Voor wat betreft de veldbioassay met kroos geldt dat het vooralsnog onvoldoende duidelijk is of de toets gevoelig genoeg is om in het veld effecten van bestrijdingsmiddelen aan te kunnen tonen. Daarom wordt op dit moment de uitvoering van deze toets nog niet aanbevolen. Uit een nader onderzoek, dat plaatsvindt in het kader van een STOWA studie, moet blijken of de toets voldoende potenties biedt om te worden ingezet als veldbioassay, of dat een alternatief moet worden gezocht. De resultaten van deze studie komen medio 2000 beschikbaar.

Aanbevolen wordt om het stappenplan in de praktijk te gaan toepassen en jaarlijks te evalueren.

Tot slot wordt opgemerkt dat fungiciden kwantitatief gezien de belangrijkste groep bestrijdingsmiddelen vormen. Er bestaat echter geen veldbioassay die zich specifiek op deze groep richt. De ontwikkeling van een dergelijke toets lijkt derhalve zinvol, temeer daar ook de chemische bepaling van een aantal stoffen met fungicide werking problematisch is.

1. INLEIDING

Probleemstelling

Waterkwaliteitsbeheerders onderzoeken regelmatig het voorkomen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater met behulp van chemische metingen. Werden hierbij zo'n tien jaar geleden nog voornamelijk de organochloor-bestrijdingsmiddelen gemeten, tegenwoordig wordt een veel breder middelenpakket onderzocht. In totaal zijn in de periode 1992-1996 ca. 150 van de 300 toegelaten werkzame stoffen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater onderzocht. Uit deze metingen blijkt dat in het oppervlaktewater op grote schaal bestrijdingsmiddelen voorkomen (CIW, 1999), waarbij in 1996 op meer dan de helft (56%) van de onderzochte locaties in de regionale wateren het Maximale Toelaatbare Risico (MTR) voor minstens één bestrijdingsmiddel wordt overschreden. Ongeveer 20% van de onderzochte middelen worden in de regionale wateren ook daadwerkelijk boven hun MTR aangetroffen.

De landelijke normen (MTR, streefwaarde) voor het oppervlaktewater zijn gebaseerd op toxicologisch onderzoek. De overschrijding van deze normen geeft aan dat er effecten op biota in de praktijk verwacht mogen worden. Daarnaast hebben de chemische bepalingen hun beperkingen (zie onderstaand). Om deze beide redenen heeft de directie Drinkwater, Water en Landbouw van het ministerie van VROM aan het Centrum voor Milieukunde (CML) van de Universiteit Leiden gevraagd om in samenwerking met Alterra, Wageningen UR, een richtlijn op te stellen voor het aantonen van het voorkomen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater en de effecten daarvan op organismen met behulp van veldbioassays met watervlooiën en kroos.

Achtergrond

De belangrijkste redenen voor het uitvoeren van bioassays zijn (zie ook: de Jong & Bergema, 1994, de Jong, 1995, STOWA, 1997a): i) het aantonen van de aanwezigheid van toxische stoffen of ii) het aantonen van effecten op biota van de aanwezige toxische stoffen. Daarnaast speelt de aansprekendheid van biologische effecten in het beleid ook een rol.

- ad i) Met chemische methoden kan slechts een beperkt gedeelte van de middelen worden gemeten: soms zijn de analysemethoden niet ver genoeg ontwikkeld (of te duur) of helemaal niet beschikbaar. Uiteraard kan alleen boven de detectiegrens worden gemeten. Bij een chemische meting is ook het moment van monsternamen van doorslaggevend belang voor de gevonden gehalten en is een meting altijd slechts een momentopname. Daarnaast zijn er veel onzekerheden zoals de daadwerkelijke blootstelling van organismen, de duur van de blootstelling, de piekbelasting en de effecten van meerdere middelen tegelijkertijd (combinatietoxiciteit). Om aan de bovengenoemde problemen tegemoet te komen kunnen bioassays worden ingezet als indicator voor de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen. Een effect in de bioassay kan in dit geval aanleiding vormen voor gerichte metingen. Het aantonen van een causale relatie tussen de effecten in de bioassay en het voorkomen van bestrijdingsmiddelen vormt hierbij één van de te beantwoorden vragen (zie ook: de Geus, 1997 & 1998). Ook kunnen bioassays indicaties geven over combinatietoxiciteit (zie: Maas & Kamps, 1998).
- ad ii) Een effect in een bioassay laat direct zien dat de aanwezige toxische stoffen tot een effect op biota leiden. Voor een vertaling van de gevonden effecten naar andere soorten of trofische niveaus is het van belang dat de bioassay representatief is voor andere biota. In dit rapport worden bioassays met watervlooiën en met kroos verder uitgewerkt. Er zijn voldoende aan-

wijzingen uit de literatuur dat de watervlo *Daphnia magna* voor wat betreft blootstelling en gevoeligheid model kan staan voor veel andere evertebraten (zie bijv. Canters *et al.*, 1990). Daarnaast heeft de watervlo een belangrijke functie in het sloot-ecosysteem, en heeft het aantreffen van een effect op deze soort daarom al een grotere betekenis dan het effect op de soort op zich. Voor wat betreft kroos *Lemna minor* is er veel minder informatie beschikbaar omtrent de representativiteit voor het ecosysteem. Toxiciteitsgegevens voor hogere waterplanten in het algemeen zijn slechts beperkt voor handen. Eén organisme kan uiteraard nooit representatief zijn voor alle andere organismen.

Veel bestrijdingsmiddelen worden gebruikt in de landbouw. Hier bestaat er een grote kans dat deze middelen in het oppervlaktewater terecht kunnen komen, omdat de landbouwpercelen in Nederland veelal worden begrensd door watergangen. De middelen kunnen onder andere in het water komen door verwaaing tijdens het bespuiten (drift), afspoeling van het perceel of uitspoeling met het grondwater, bijvoorbeeld via drainage. Deze studie richt zich in principe op de oppervlaktewateren in het landelijk gebied (de zogenaamde regionale wateren). Dit wil echter niet zeggen dat de bioassays niet op andere plaatsen, bijvoorbeeld in het stedelijk gebied, kunnen worden toegepast. Dit vormt echter geen onderwerp van dit rapport.

Veldbioassays met watervlooien worden in de praktijk bij verschillende waterschappen toegepast. Daarom wordt in dit rapport de watervlooiendoets als indicator voor het voorkomen van insecticiden gekozen en uitgewerkt. Voor hogere waterplanten bestaat nog geen veldtoets. Uit een STOWA-studie (STOWA, 1997 a,b) komt als aanbeveling om hiervoor een kroostoets verder uit te werken. Deze uitwerking geschiedt op dit moment bij het CML in opdracht van de STOWA. Uit de voorlopige resultaten van die studie blijkt dat de kroostoets mogelijk niet gevoelig genoeg is om in het veld de effecten van de meeste herbiciden bij in de praktijk voorkomende concentraties aan te tonen. Als case wordt in dit rapport, onder andere wegens het ontbreken van alternatieven, de kroostoets uitgewerkt. Mogelijk moet deze toets echter worden vervangen door een andere toets met waterplanten.

Doelstelling

Het doel van het project is het opstellen van een richtlijn voor waterkwaliteitsbeheerders voor het toepassen van veldbioassays om bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater aan te tonen. De richtlijn moet hierbij vooral praktische aanknopingspunten bieden voor de waterschappen en ook duidelijke protocollen voor het uitvoeren van bioassays met watervlooien en kroos bevatten. Verder is een doel van het project om de rol van de bioassays bij de beoordeling van de waterkwaliteit aan te geven, waarbij ook duidelijk moet worden wanneer een veldbioassay wel of geen meerwaarde heeft.

Opzet rapport

In hoofdstuk twee van dit rapport wordt in het kort de gehanteerde werkwijze weergegeven. Hoofdstuk 3 vormt de kern van het rapport; in dit hoofdstuk wordt het gehele traject voor het uitvoeren van de bioassays met watervlooien en kroos doorlopen, inclusief de selectie van de bioassays, de uitvoering en de interpretatie van de resultaten. De richtlijnen voor het uitvoeren van de bioassays zelf staan in de bijlage bij dit rapport. In hoofdstuk 4 wordt de procedure toegelicht aan de hand van een aantal voorbeelden, en wordt de toepasbaarheid van de richtlijn behandeld aan de hand van een aantal praktijksituaties. Het rapport wordt besloten met een hoofdstuk discussie, conclusies en aanbevelingen (Hoofdstuk 5).

2. WERKWIJZE

Bij het uitvoeren van het onderzoek zijn twee fasen onderscheiden:

1. Opstellen van een richtlijn, bestaande uit een stappenplan en protocollen voor de veldbioassays met watervlooiën en kroos.
2. Uitvoeren van pilot-experimenten, bedoeld voor het toetsen en bijstellen van de richtlijn.

Onderstaand wordt de methode per fase verder uitgewerkt.

1. Opstellen van de richtlijn.

Als eerste is aan de hand van beschikbare gegevens en de STOWA rapporten "Biomonitoringstechnieken voor bestrijdingsmiddelen en zware metalen in watersystemen" (STOWA, 1997a & b) een concept richtlijn opgesteld. Ook voor een analyse van de knelpunten die zich voor kunnen doen bij het invoeren en toepassen van veldbioassays is gebruik gemaakt van deze rapporten. Deze informatie is aangevuld met informatie uit drie interviews met waterkwaliteitsbeheerders. De interviews staan beknopt weergegeven in bijlage 6. Daarnaast is ook gebruik gemaakt van de uitkomsten van eerdere enquêtes (STOWA, 1996, 1997a,b). De resultaten van de STOWA-gegevens en de interviews zijn verwerkt in de richtlijn. De ervaringen hebben overigens alleen betrekking op de bioassay met watervlooiën, omdat een bioassay met kroos of andere waterplanten nog niet beschikbaar was.

De richtlijn is gepresenteerd in de vorm van een stappenplan. Onderdeel van dit stappenplan is een specificatie van de te verwachten effecten in de vorm van een beslisboom. Voor de onderbouwing van deze beslisboom is gebruik gemaakt van het model ISBEST (Smidt *et al.*, in voorbereiding, zie ook bijlage 2.1).

Tot slot is in de richtlijn ook aandacht besteed aan de beoordeling van de meetgegevens, uitgaande van uitvoering van de toetsen en metingen volgens de richtlijn. Voor de statistisch interpretatie worden vuistregels gegeven.

Aan de hand van de ervaringen in de pilot-projecten en de praktijkervaringen van de waterschapen is de richtlijn in een definitieve vorm omgezet. De definitieve richtlijn is dus gebaseerd op literatuur en praktijkgegevens, en op ervaringen in de in het kader van dit project uitgevoerde veldtoetsen.

Ten einde het draagvlak te vergroten voor de veldbioassays wordt er samen met het CIW een workshop georganiseerd met de waterkwaliteitsbeheerders (zie voor de opzet van deze dag bijlage 1). Op deze dag wordt o.a. de richtlijn gepresenteerd en zo nodig aangepast.

Voor wat betreft de voorgestelde veldtoetsen geldt dat de watervlooiëntoets inmiddels reeds in de praktijk wordt toegepast. Een uitgewerkt protocol voor de uitvoering van de toets ontbreekt echter nog. De kroostoets is op dit moment (bij het CML in opdracht van de STOWA) in ontwikkeling. Voor de uitvoering van beide toetsen zijn protocollen opgesteld, waarbij de richtlijn voor de watervlooiëntoets gebaseerd is op een veel breder scala aan praktijkervaringen dan de kroostoets. Deze laatste richtlijn heeft dan ook een voorlopig karakter.

2. Uitvoeren van pilot-experimenten.

De pilot-experimenten hadden primair tot doel de opgestelde richtlijn te toetsen en eventueel bij te stellen. Het doel was niet om effecten van bestrijdingsmiddelen aan te tonen. De experimenten zijn uitgevoerd in augustus en september; in deze periode is de piek van de (insecticiden en herbiciden) bespuitingen reeds achter de rug, zodat effecten ook niet a-priori verwacht mogen worden. Daarnaast maakt ook het geringe aantal experimenten, namelijk twee, de kans dat er daadwerkelijk effecten van bestrijdingsmiddelen worden aangetoond kleiner. Dit neemt niet weg dat er uiteraard wel onderzoek is gedaan in gebieden, waar potentieel een hoge belasting aan bestrijdingsmiddelen te verwachten is.

De twee pilot-experimenten zijn uitgevoerd in het gebied van het Hoogheemraadschap van Rijnland. Bij dit Hoogheemraadschap bestaat reeds langer belangstelling voor ecotoxicologische toetsen (AquaSense, 1995). Recent is een aanvang gemaakt met het uitvoeren van bioassays voor bestrijdingsmiddelen (Wassenburg, 1999). Het eerste pilot-experiment is uitgevoerd in de Bollenstreek; een tweede experiment is uitgevoerd in de Haarlemmermeerpolder. De gebieden verschillen zowel in grondsoort als in landbouwkundig gebruik, zodat het niet nodig werd geacht om de tweede pilot in een geheel ander gebied uit te voeren.

De ervaring met dergelijk veldexperimenten leert dat er zich in de praktijk vaak omstandigheden voordoen die vanuit de proefopzet ongewenst zijn, zoals het plotseling en onverwacht wijzigen van de weersomstandigheden, het gedrag van de boer, verloren gaan van proefopstellingen etc. Daarom was voorgesteld om naast experimenten in de praktijk, ook gecontroleerde experimenten uit te voeren. Hierbij kon worden deelgenomen aan een mesocosm experiment van ALTERRA, waarbij proefbespuitingen worden uitgevoerd, en het verloop van concentraties nauwkeurig wordt gevolgd. Aangezien dit experiment vroegtijdig is gestopt, kon hieraan slechts beperkt en alleen met watervlooiën worden deelgenomen (zie bijlage 7).

3. STAPPENPLAN

Bij het opzetten en uitvoeren van een effectgerichte biomonitoring door middel van bioassays doet zich in eerste instantie de vraag voor of het zinvol is om bioassays in te zetten, of dat andere methoden (bijv. chemische metingen) effectiever zijn. Als deze vraag ten gunste van bioassays is beantwoord doet zich vervolgens de vraag voor welke bioassays moeten worden ingezet en wanneer. In deze studie beperken we ons tot bioassays met watervlooien en waterplanten, waarbij voor de waterplanten voorlopig een bioassay met kroos is uitgewerkt. Voor deze toetsen wordt bekeken in welke situaties (gebieden, teelten, periode en middelen) deze bioassays zinvol kunnen worden ingezet. In de protocollen voor de bioassays komt aan de orde hoe de bioassays moeten worden uitgevoerd. Na het uitvoeren van de bioassays moeten de resultaten worden geïnterpreteerd en is het gewenst om eventueel opgetreden effecten te relateren aan de aanwezigheid van verontreinigingen in het oppervlaktewater. Ook deze aspecten worden in dit hoofdstuk behandeld.

Voor de opzet van dit hoofdstuk is gekozen voor de vorm van een stappenplan, waarbij de tweede stap is uitgewerkt in de vorm van een beslisboom. De vier onderscheiden stappen zijn:

1. Doelbepaling (§ 3.1)
2. Specificatie (§ 3.2)
3. Uitvoering (§ 3.3)
4. Interpretatie (§ 3.4)

3.1 Stap 1: Doelbepaling

Uitgangspunt hierbij is dat de waterkwaliteitsbeheerder op enigerlei wijze geconfronteerd wordt met bestrijdingsmiddelen. Dit kan zijn door gegevens over gebruik, introductie van een bepaalde teelt, metingen, etc. Daarnaast wordt ervan uitgegaan dat de waterkwaliteitsbeheerder een bepaald budget ter beschikking heeft, en dit zo efficiënt mogelijk wil inzetten. Voorafgaand aan het inzetten van de bioassays is het essentieel dat duidelijk wordt omschreven wat precies het doel is waarvoor de bioassays worden ingezet (zie stroomschema 1). Daarbij is het ook van belang dat er vooraf een verwachting (hypothese) van de uitkomsten wordt vastgesteld. In eerste instantie kan deze verwachting algemeen worden geformuleerd; in stap 2 moet en kan de verwachting worden gespecificeerd.

In de inleiding zijn twee hoofddoelen onderscheiden:

1. Het aantonen van de aanwezigheid van toxische stoffen. Hierbij kan nog verder onderscheid worden gemaakt in:
 - 1a. men wil middels monitoring een indruk krijgen van de waterkwaliteit in relatie tot bestrijdingsmiddelen, eventueel in relatie tot de effectiviteit van beleid.
 - 1b. er is een specifieke vraag of een specifiek probleem.
2. Het aantonen van effecten op biota van de aanwezige toxische stoffen.

Ad 1a. De behoefte aan monitoring zal vooral ontstaan in gebieden met meerdere teelten en/of een grote diversiteit aan chemische middelen. In het geval men behoefte heeft aan monitoring kan direct worden verdergegaan met stap 2 van het stappenplan: naar aanleiding van het doorlopen van stap 2 kan worden besloten of bioassays de aangewezen weg zijn of dat andere

methoden de voorkeur verdienen. De metingen moeten daarna zo worden opgezet dat ook een uitspraak kan worden gedaan ten aanzien van de verwachte resultaten of effecten.

- Voorbeeld: In een bepaald gebied wordt in toenemende mate bloembollenteelt geïntroduceerd; men heeft de verwachting dat hierdoor het gebruik van bestrijdingsmiddelen zal toenemen evenals de belasting van het oppervlaktewater. In stap twee moet dan verder worden gespecificeerd om welke middelen het gaat, waar de belasting optreedt, wanneer en vervolgens wat de beste meetmethode is.

Ad 1b. Bij een specifiek probleem kan er vooraf al veel meer worden gespecificeerd. Het is al veel duidelijker om welk middel het gaat, waar de belasting optreedt, wanneer, etc. Ook de verwachting is vaak veel duidelijker. Wanneer precies bekend is om welk middel het gaat, wanneer het wordt toegepast of het in het water komt en er is een analyse methode, dan lijkt een chemische bepaling de aangewezen weg. Er kan dan direct worden getoetst aan het MTR (INS-notitie, 1997). Er kunnen echter toch argumenten zijn om voor bioassays te kiezen, zoals combinatie-toxiciteit. Bovendien hebben bioassays steeds het voordeel dat de uitkomsten niet zo afhankelijk zijn van het tijdstip van monstername als chemische metingen. Voor een keuze kunnen al naar gelang de vraagstelling gedeelten van stap twee worden doorlopen; met name kan worden opgezocht of het voor de betreffende teelt of middelengroep zinvol is om een bioassay uit te voeren, en zo ja, welke. Eventueel kan direct in bijlage 2 worden opgezocht of effecten mogen worden verwacht.

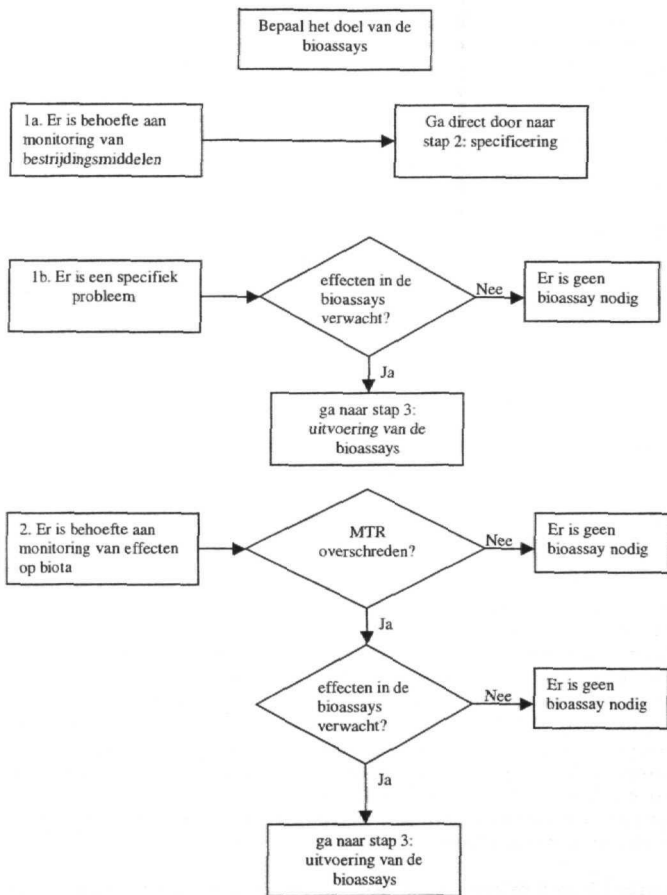
Naast een specifiek probleem met een bepaald bestrijdingsmiddel kunnen er vanzelfsprekend ook hele andere doelen zijn zoals bijvoorbeeld het overtuigen van een doelgroep of het uitproberen van de bioassays.

- Voorbeeld 1: in de bollenteelt werd tot voor kort veelvuldig carbendazim in het oppervlaktewater aangetroffen, mogelijk afkomstig van dompelbadrestanten of het spoelen van bollen. Het meten van dit middel kan hier een onomstotelijk bewijs leveren dat er inderdaad geloofd is. Wil men echter voor een groot gebied en een lange periode een indruk krijgen van de belasting met dit middel, dan kan een bioassay – mits gevoelig voor in dit geval carbendazim – een goed alternatief vormen. Een probleem wat zich hierbij voordoet is dat bijlage 2 niet is gebaseerd op middelen maar op teelten en dus niet kan worden afgeleid of het betreffende middel potentieel tot effecten leidt in de bioassay.

Om toch een indruk te krijgen van de potentiële gevoeligheid van de bioassays kan in dat geval in het Handboek Bestrijdingsmiddelen (van Rijn, 1995) of bij het CTB (internet, gele databank <http://www.bib.wau.nl/ctb/geel.html>) worden opgezocht of het middel toxisch is voor watervlooien of waterplanten. Voor kroos zijn over het algemeen geen data beschikbaar. In dat geval moeten de gegevens voor algen als indicator worden genomen. In dit geval wordt in de CTB-data een laagste EC50 voor algen gevonden van 0,34 mg werkzame stof/l en voor watervlooien 0,076 mg w.s./l. Deze getallen geven aan dat bij deze concentraties in het laboratorium bij kortdurende (24 uur) toxiciteitsproeven 50% effect (alg) of sterfte (watervlo) optreedt. Deze gehalten kunnen vervolgens worden vergeleken met de aangetroffen gehalten in het oppervlaktewater en op deze wijze kan een inschatting worden gemaakt van de te verwachten effecten. Als vuistregel kan hierbij worden gehanteerd dat als de aangetroffen concentraties niet hoger zijn dan 10% van de EC50 waarden, een veldbioassay waarschijnlijk geen effecten laat zien. Als een middel weinig toxisch is voor waterorganismen, is het inzetten van een bioassay niet zinvol. Als een middel wel toxisch is kunnen er, mits het middel in het oppervlaktewater terechtkomt, in principe effecten worden verwacht.

- Voorbeeld 2: in een polder worden regelmatig vliegtuigbespuitingen uitgevoerd. De waterkwaliteitsbeheerder wil weten wat het effect is op de waterkwaliteit. Bioassays kunnen worden ingezet om een indruk te krijgen van deze effecten. Wel moet worden nagegaan of er van het betreffende middel effecten zijn te verwachten bij de te verwachten concentraties.

Stroomschema 1: Doelbepaling



Ad 2. In dit geval zijn er al duidelijke aanwijzingen omtrent de aanwezigheid van stoffen in het oppervlaktewater, maar gaat het erom aan te tonen dat deze stoffen daadwerkelijk tot effecten op biota leiden. Een belangrijke reden kan zijn dat normen (MTR, zie INS-notitie, 1997) voor de aangetroffen middelen structureel worden overschreden. In dit geval verdient het wel aanbeveling om de betrokken stoffen te screenen op hun risico voor de bioassay organismen watervlooiën en kroos (zie verder onder 1b, voorbeeld 1).

3.2 Stap 2: Specificatie

Als het doel van het onderzoek is omschreven kan er vervolgens een specificatie en een keuze van de geschikte methode plaatsvinden. De specificatie begint met een omschrijving van het betreffende gebied, de teelten en de gebruikte middelen. Aan de hand hiervan wordt vervolgens een keuze gemaakt voor een methode.

Stap 2.1: Gebiedsbeschrijving

Er wordt begonnen met een beschrijving van het te onderzoeken gebied. Veelal zal dit een eenheid zijn voor wat betreft de waterhuishouding. Een goed beeld van een polder voor wat betreft de waterstromen, in- en uitlaatpunt etc. is van belang voor de verspreiding van de bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater. Deze gegevens op polderniveau zijn aanwezig bij de waterkwaliteitsbeheerders of bij de afzonderlijke waterschappen. Daarnaast is een lokaal bezoek aan de gemaalbeheerders aan te bevelen, omdat deze het beste inzicht in de praktijksituatie hebben. Het te onderzoeken gebied verder gekarakteriseerd voor wat betreft oppervlakte, grondsoort en dominante teelten.

Stap 2.2: Gewaskeuze (Stroomschema 2a).

Een volgende stap is het in kaart brengen van de teelten in het betreffende gebied. Hierover is bij de waterschappen al veel informatie aanwezig, omdat deze regelmatig in contact staan met de telers in verband met waterpeilbesluiten, schouw en vergunningverlening. Aanvullende informatie kan worden verkregen bij lokale landbouworganisaties. Bij het CBS is informatie over teelten en arealen op het niveau van gemeenten beschikbaar (bijv. CBS-Landbouwdatabank 1980-1998).

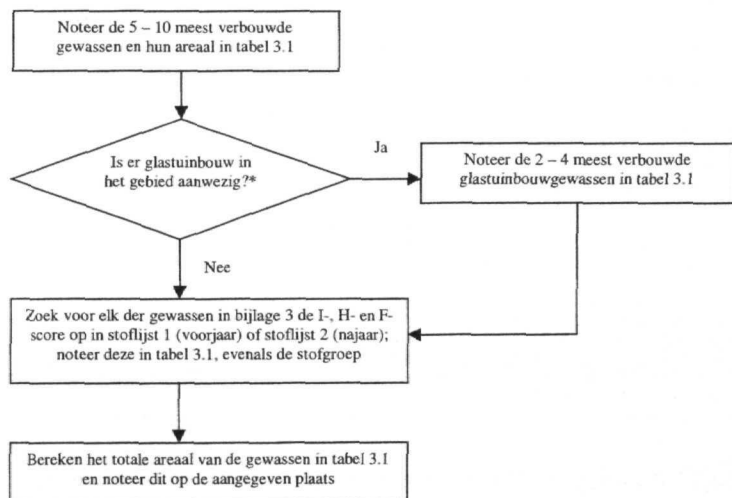
De procedure is als volgt:

Kies uit de lijst van gewassen (voorjaar: bijlage 2.2a; najaar: bijlage 2.2b) de minimaal 5 en maximaal 10 gewassen die in het gebied het meest worden verbouwd en noteer deze in tabel 3.1. De keuze wordt gemaakt op basis van de grootte van het areaal waarop het gewas wordt verbouwd. Indien in het gebied ook gewassen onder glas worden geteeld dienen aan deze lijst de 2 – 4 meest verbouwde glastuinbouwgewassen te worden toegevoegd. Hoe meer gewassen worden opgenomen in de tabel, hoe betrouwbarder in principe het resultaat van de procedure zal zijn. Indien in een bepaald gebied voornamelijk glastuinbouw plaatsvindt, kunnen meer glastuinbouw gewassen worden meegenomen. Noteer voor elk der gewassen het areaal, de I(nsecticide)-score, de H(erbicide)-score en de F(ungicide)-score. Noteer tevens voor elk der gewassen welke stofgroep bij het betreffende gewas staat vermeld in bijlage 2.2. Bereken het totaal areaal van de in beschouwing genomen gewassen en noteer deze in tabel 3.1.

In bijlage 2.2 wordt de grens tussen winter en voorjaar gelegd tussen week 8 en 9 en de grens tussen zomer en herfst tussen week 36 en 37. Achtergrond hiervan is dat er in principe onderscheid wordt gemaakt tussen het middelengebruik in het groeiseizoen en in het winterseizoen. Voor de teelten onder glas is aangenomen dat er geen verschil in gebruik optreedt en dat de belasting in beide seizoenen gelijk is. Voor de overige teelten is duidelijk dat het gebruik in het "winterseizoen" veel lager is dan in het zomerseizoen. Hieruit kan geconcludeerd worden dat het in gebieden zonder teelten onder glas nauwelijks zinvol is om de bioassays in het winterseizoen uit te voeren, met een enkele uitzondering. Overigens ook om andere redenen kunnen er in het vroege voorjaar geen bioassays worden uitgevoerd: de weersomstandigheden zijn dan zodanig, dat niet wordt voldaan aan de voorwaarden voor het uitvoeren van de bioassays (zie § 3.3). In het

vroege najaar speelt dit echter nog geen rol. Hier moet worden opgemerkt dat de gekozen grenzen per jaar en per teelt moeten worden geïnterpreteerd. In een koud jaar kan een teelt langer duren dan in een warm jaar. Als men bioassays wil uitvoeren in een periode op de grens tussen de beide tabellen, wordt aanbevolen om het stappenplan zowel voor de zomer-tabel als voor de winter-tabel te doorlopen. Als dan blijkt dat het uitvoeren van de bioassays in één van beide seizoenen niet zinvol is, moet ter plekke worden gekeken hoe de stand met de relevante teelten is: is er al geoogst, vinden er nog bespuitingen plaats. Aan de hand hiervan kan dan worden besloten of het uitvoeren van bioassays nog/al zinvol is. Anderzijds kan met deze tabellen ook worden bepaald wanneer men de bioassays in moet zetten met de grootste kans op het aantreffen van effecten.

Stroomschema 2a: Vaststellen van de dominante gewassen



*Voor het geval er voornamelijk glastuinbouw is: kies meer glastuinbouwgewassen

Samenvatting werkwijze. Voor achtergronden: zie bijlage 2.1.

De keuze van het in te zetten bioassay is gebaseerd op een vaststelling van de meest voorkomende gewassen in het betreffende gebied. In veel gewassen worden specifieke gewasbeschermingsmiddelen gebruikt. De berekening van de belasting van oppervlaktewater is gebaseerd op de verbruiksgegevens en driftgegevens uit ISBEST, die worden gecorrigeerd voor verdwijning door te vermenigvuldigen met de *verdwijnfactor die in bijlage 2.1 is beschreven*. Binnen dit systeem zijn verbruiksgegevens (CBS en LEI, 1995) bijeengebracht van alle toegelaten gewasbeschermingsmiddelen. Op basis van deze informatie is voor de in bijlage 2.2 genoemde gewassen aan te geven welke groepen gewasbeschermingsmiddelen hierbij vooral worden ingezet.

Toxische effecten van bestrijdingsmiddelen op waterorganismen zijn het gevolg van de belasting van oppervlaktewater met deze stoffen. Deze belasting komt tot stand via verschillende routes, zoals drift van spuitvloeistof naar belendende sloten, *uitspoeling van het middel via drainage, afspoeling tengevolge van neerslag*, lozing van met bestrijdingsmiddelen besmet water vanuit kassen etc. In welke mate de belasting leidt tot een effect hangt af van 3 factoren:

1. de hoogte van de belasting, dat wil zeggen: de hoeveelheid stof die het oppervlaktewater bereikt;
2. de snelheid waarmee de stof uit het water verdwijnt door afbraak, sorptie aan sediment, verdamping en andere verdwynprocessen;
3. de giftigheid van de stof voor verschillende soorten organismen die zich in het water bevinden.

Deze gegevens zijn verkregen door gebruik te maken van model TOXSWA, waardoor een indruk is verkregen welke middelen daadwerkelijk in het oppervlaktewater zullen worden aangetroffen. De kans op biologische effecten van een middel wordt beoordeeld via een door het CLM ontwikkelde methodiek, waarbij op basis van de acute toxiciteit voor aquatische organismen "milieubelastingspunten" worden toebedeeld. Voor de 5 bestrijdingsmiddelen die in het betreffende gewas de meeste milieubelastingspunten veroorzaken zijn de punten bij elkaar opgeteld, gegroepeerd naar insecticide, herbicide of fungicide werking van de middelen. De hieruit resulterende scores per gewas zijn weergegeven in bijlage 2.2 voor een groot aantal gewassen. Hierbij is tevens aangegeven welke chemische stofgroep (organofosfor verbindingen, pyrethroiden, ureum verbindingen etc.) verantwoordelijk is voor de hoogste score.

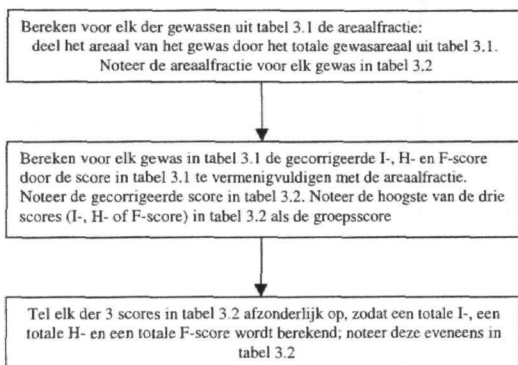
De resulterende informatie is per periode (voorjaar en najaar) gedifferentieerd. Zo is het in de akkerbouw niet ongebruikelijk dat in het voorjaar vooral herbiciden worden ingezet, terwijl later in het groeiseizoen de nadruk meer ligt op insecticiden en fungiciden. Voor andere teeltsectoren (bijv. de glastuinbouw) kan dit anders liggen. Deze informatie wordt gekoppeld aan de randvoorwaarden van de bioassays (bijv. als de temperatuur te laag is kunnen geen bioassays in het veld worden uitgevoerd; zie verder § over randvoorwaarden).

Stap 2.3: Bepaling van het type effect dat mag worden verwacht (Stroomschema 2b).

Bereken het totale areaal van de geselecteerde gewassen door de arealen van de afzonderlijke gewassen bij elkaar op te tellen. Bepaal voor elk der gewassen welk deel van het areaal door dit gewas wordt gebruikt (arealafractie) door het areaal voor dit gewas te delen door het zojuist berekende totale areaal. Gewassen die niet op de lijst voorkomen worden dus niet in de berekening van het totale areaal betrokken.

Bereken voor elk der gewassen een "areaal gecorrigeerde" I-, H- en F-score door de aan de lijst ontleende score te vermenigvuldigen met de arealafractie. Noteer voor elk gewas bij de reeds genoteerde stofgroep de hoogste van de 3 gecorrigeerde (I-, H- en F-) scores. Dit is de "groepscore" van het betreffende gewas (Tabel 3.2). Deze score kan, na het uitvoeren van de bioassays worden gebruikt voor het vinden van de stofgroepen die de eventuele effecten hebben veroorzaakt (zie § 3.4).

Stroomschema 2b. Bepaling van de te verwachten effecten



Bereken de I-, H- en F-score van het gebied door de areaal gecorrigeerde scores voor de verschillende gewassen bij elkaar op te tellen.

Stap 2.4: Keuze van het bioassay (Stroomschema 2c).

De kans op het optreden van effecten in het bioassay neemt toe naarmate de (I-, H- danwel F-) score groter wordt. De score waarboven de eerste merkbare effecten zullen optreden is mede afhankelijk van de variaties die in blanco's optreden, die op hun beurt worden bepaald door onder meer omgevingsfactoren (fluctuaties in temperatuur, zuurstofgehalte etc.) en de ervaring van degene die het bioassay uitvoert. Bij een score van boven de 500 (wat overeenkomt met 0,5 acute EC₅₀ voor de gevoeligste soort) is de kans op het optreden van effecten duidelijk verhoogd, en is het raadzaam om het betreffende bioassay uit te voeren. Deze grens kan echter enigszins verschillen van gebied tot gebied. Er wordt in deze tekst en in de stroomschema's aangenomen dat de variatie in de blanco's vrij gering is en effecten merkbaar zijn bij een score > 500; dit getal kan eventueel naar eigen inzicht worden bijgesteld.

I-score > 500: watervlo-bioassay

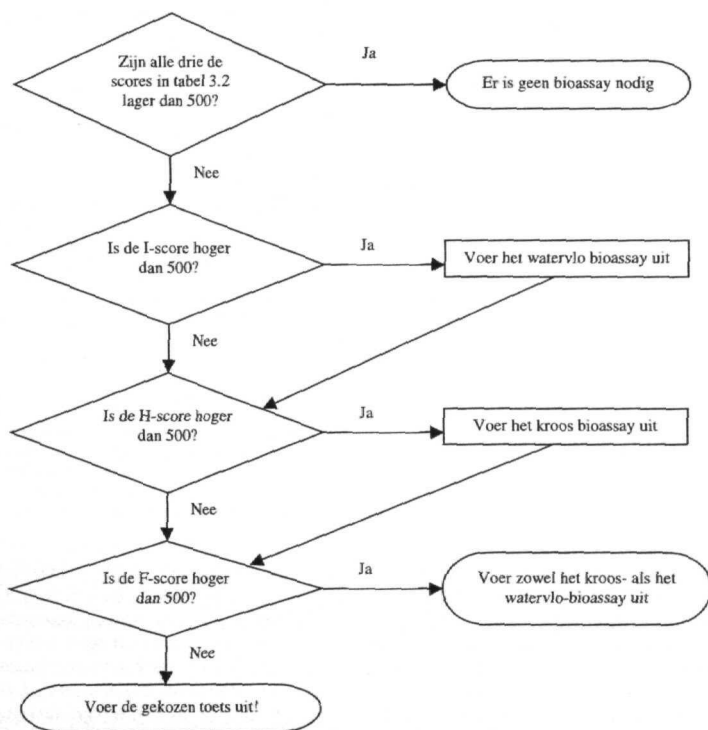
H-score > 500: kroos-bioassay

F-score > 500: watervlo-bioassay; ook de kroos-bioassay heeft een verhoogde kans op effect.

Bij een hoge F-score heeft een watervlo-bioassay de voorkeur. Gezien de brede werking van veel fungiciden is te overwegen om ook een kroos-bioassay uit te voeren.

Als alle 3 de scores beneden de 500 punten liggen is het risico voor waterleven waarschijnlijk gering en kan worden overwogen om geen bioassay uit te voeren. Als meer dan één score boven de 500 ligt verdient het aanbeveling om beide typen bioassay uit te voeren.

Stroomschema 2c. Bepaling van het uit te voeren bioassay.



Ontbrekende gewassen.

In de scorelijsten voor de verschillende gewassen (bijlagen 2.2) zijn per sector de grootste gewassen opgenomen, gebaseerd op de CBS landbouwtelling van 1995 (CBS, 1995). De kans dat voor een regio het meest dominante gewas niet in de scorelijst staat lijkt dan ook klein. Voor minder belangrijke gewassen is niet uit te sluiten dat ze niet in de scorelijst staat. Mocht dit zich voordoen, dan wordt het gewas behandeld alsof het niet in het gebied wordt geteeld, met andere woorden: het wordt uit de lijst van teelten verwijderd, c.q. vervangen door het eerstvolgende gewas dat in het gebied wordt geteeld en dat wel in de scorelijst voorkomt.

De tabellen 3.1 en 3.2 vormen de kern van de selectieprocedure in het stappenplan. De tabellen dienen per geval te worden ingevuld. In hoofdstuk vier wordt een aantal voorbeelden besproken.

De uitkomst van de beschreven procedure, eventueel aangevuld met actuele en locatie-specifieke gegevens, is een lijst van teelten en middelen, en de toepassingen waarvan effecten in de bioassays worden verwacht. Voor die middelen waarvoor geen effecten in de bioassays worden verwacht, zijn chemische metingen voornamelijk de enige mogelijkheid. Wanneer wel effecten worden verwacht kan er in principe nog steeds worden gekozen voor een chemische of een biologische meting. Voor de chemische meting geldt vervolgens dat dit alleen mogelijk is als er voor het betreffende middel een analysemethode voor oppervlaktewater met een voldoende nauwkeurige detectiegrens beschikbaar is. Is dit niet het geval, dan is een biologische meting de enige mogelijkheid.

Tabel 3.1 Overzicht van de belangrijkste gewassen in de regio en hun scores. I-, H-, F-score en stofgroep zijn voor elk gewas ontleend aan de "Scorelijst voor gewassen" (bijlage 2.2).

	Gewas	Areaal	I-score	H-score	F-score	Stofgroep
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
G1						
G2						
G3						
G4						
	Totaal areaal					

Tabel 3.2 Areaalgecorrigeerde I-, H- en F-scores voor de afzonderlijke stoffen in het beschreven gebied.

	Gewas	Areaalfraction	I _{areaal}	H _{areaal}	F _{areaal}	Groepsscore
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
G1						
G2						
G3						
G4						
	Totaal:					

3.3 Stap 3: Uitvoering

Toetsvoorwaarden

Een aantal factoren kan ervoor zorgen dat de uitkomsten van de bioassays zodanig worden beïnvloed dat een effect van een bestrijdingsmiddel, althans bij de standaardopzet, niet meer kan worden gemeten. Soms is het mogelijk om met een aangepaste proefopzet toch de effecten van bestrijdingsmiddelen te onderzoeken (bijvoorbeeld meer herhalingen). Dit valt echter buiten het bestek van deze richtlijn.

Fysisch/chemische omstandigheden

Fysisch-chemische parameters hebben invloed op de effectparameters. In tabel 3.3 wordt weergegeven binnen welke grenzen deze parameters zich moeten bevinden om de bioassay onder de in deze richtlijn beschreven voorwaarden uit te kunnen voeren. Voor parameters die snel kunnen wijzigen (bijvoorbeeld zuurstof), moet worden opgemerkt dat het in het geval van watervlooiën gaat om de gehalten in de pot. De luchtbel in de pot kan ervoor zorgen dat het zuurstofgehalte hoger is dan het gehalte in het slootwater.

Tabel 3.3 Omstandigheden waaronder een veldbioassay zinvol kan worden uitgevoerd (bron: STOWA, 1992a, 1997b).

factor	toepasbaarheid watervlooiëntoets	toepasbaarheid kroostoets
temperatuur (periode)	>6°C (april-november)	15-30°C (juni-september)
waterdiepte	> 25 cm	> 25 cm
zuurstof	>3 mg/l	n.v.t.
pH	6-9	4-10
NO ₂ ⁻	<6 mg/l	
NH ₄ ⁺	<30 mg/l	
NH ₃	<1,2 mg/l	
N		1,1-430 mg/l
Fosfaat		0,1-360 mg/l
K		20-400 mg/l
Cl ⁻	<0,5 g/l	<2 g/l
Geleidbaarheid	>10 <1700 µS/mm	<1700 µS/mm
Saliniteit (0/00)	<1	
sloottype	zandsloten veensloten kleislotten (pH<9) licht-brakke sloten (Cl <0,5 g/l)	zandsloten veensloten kleislotten licht-brakke sloten zure sloten (pH>4) brakke sloten (Cl<2 g/l)

Voor wat betreft de sloottypen, zoals onderscheiden door de STOWA (STOWA, 1993a, 1993b) blijkt uit de tabel dat de kroostoets in alle typen kan worden uitgevoerd (binnen de aangegeven randvoorwaarden), terwijl de watervlooiëntoets niet kan worden uitgevoerd in zure sloten en in brakke sloten. In een watergang in het gebied van het Waterschap Regge en Dinkel bleek inderdaad dat de watervlooiën in lage pH (4,8) niet overleefden (Scheele, 1998).

Er zijn geen aanwijzingen dat de functie van de sloot voor de waterhuishouding (meestal samenhangend met de afmetingen: sloot, tocht, vaart, hoofdvaart, leiding) van invloed is op de toepasbaarheid van de toets.

Voor stromende wateren wordt een aantal opmerkingen gemaakt. Ten eerste komen kroos en watervlooien normaal gesproken niet in stromende wateren voor; zij spoelen namelijk weg. Er zijn echter vooralsnog geen aanwijzingen dat er grote verschillen in gevoeligheid voor bestrijdingsmiddelen bestaan tussen *Daphnia*'s en kroos en in stromend water voorkomende organismen. Daarom kunnen deze bioassays toch representatief zijn voor ter plekke voorkomende organismen. Een probleem bij stromend water is dat er verdunning op kan treden als er van bovenstrooms schoner water wordt aangevoerd. Het is daarom de vraag in hoeverre de bioassays gevoelig genoeg zijn om effecten aan te tonen. Dit probleem speelt echter evenzeer bij chemische metingen. Voor wat betreft de hier voorgeschreven methode voor de watervlooien met glazen potten (zie protocollen, bijlage 3) is het niet bekend of deze ook in stromend water toepasbaar zijn. Een andere methode, die gebruik maakt van een korf (Kamps-Mulder, 1999) is in de Maas uitgetest en bleek hier goed te functioneren. Met glazen potten is het wellicht noodzakelijk om deze steviger te bevestigen, bijvoorbeeld aan een stok, zodat ze door de stroming niet omvallen. In hoeverre de kroostests uitgevoerd kan worden in stromend water is nog onbekend.

Voor metalen worden in tabel 3.4 de gehalten weergegeven waarbij geen effecten worden gevonden. Bij aangetroffen gehalten lager of gelijk aan deze waarden kan de toets dus worden uitgevoerd. Bij hogere gehalten kunnen er effecten optreden, en is de toets niet geldig voor het aantonen van effecten van bestrijdingsmiddelen.

Tabel 3.4 No-Observed-Effect Concentraties in oppervlaktewater van een aantal metalen voor watervlooien en kroos; bron: Beek & Knoben, 1997 & STOWA, 1997b; voor kroos is aangenomen dat het NOEC gelijk is aan 0,1 x EC50; - = geen gegevens beschikbaar.

metaal	NOEC watervlooien (µg/l)	NOEC kroos (µg/l)
arsen	570	63
cadmium	0,83	9
chromium	35	-
koper	7,4	13
kwik	0,7	-
lood	40	-
nikkel	730	-
zink	37	29

In de praktijk kunnen er nog andere factoren zijn die de overleving van watervlooien beïnvloeden. Hierbij kan bijvoorbeeld gedacht worden aan predatie door de platworm *Mesostoma*. Maar ook wegvangen van zonlicht door een dik plantendeel of een lage algengroei bij zeer nutriëntarme sloten kan ervoor zorgen dat er te weinig voedsel voor de watervlooien is. Weinig voedsel (algen) leidt over het algemeen niet tot sterfte van de dieren, maar ze kunnen wel aanzienlijk kleiner zijn en minder nakomelingen voortbrengen.

Keuze monsterpunten

Voor de keuze van de monsterpunten wordt in de protocollen (bijlage 3) een opzet gegeven. In de praktijk kan het echter voorkomen dat er geen duidelijk referentiegebied kan worden aangewezen. In dit geval moet er gezocht worden naar watergangen, die vergelijkbaar zijn met de blootgestelde watergangen voor wat betreft de bovengenoemde aspecten, maar die niet blootge-

steld worden aan bestrijdingsmiddelen. Hiervoor kan gedacht worden aan watergangen in de buurt van inlaatpunten, parken, watergangen rond veehouderijbedrijven, etc. Er wordt voorgeschreven om minstens 5 referentiepunten in beschouwing te nemen.

Voor wat betreft de keuze van de blootgestelde punten zijn er vanuit het waterkwaliteitsbeheer goede redenen om bij de in- en uitlaatpunten te meten. Het is echter zeer de vraag of hier de hoogste (piek)-belastingen optreden; weliswaar komt theoretisch alle water langs deze punten, hier staat tegenover dat er verdunning optreedt. Daarom wordt aanbevolen om naast deze punten ook enkele meetpunten in de kavelsloten te kiezen, waar de grootste kans op het optreden van piekbelastingen bestaat. Mede ingegeven door praktische mogelijkheden wordt aanbevolen om per experiment 15 potentieel blootgestelde meetpunten in beschouwing te nemen. Uiteraard wordt dit aantal beïnvloed door de doelstelling van het onderzoek.

Protocollen

Voor de concrete uitvoering van de bioassays wordt verwezen naar de richtlijnen voor de water-vlooiëntoets en voor de kroostoets, zoals beschreven in resp. bijlage 3.1 en 3.2. Voor de opzet van de protocollen is gekeken naar de opbouw van internationaal gehanteerde protocollen, waaraan specifieke onderdelen zijn toegevoegd. De volgende onderdelen worden onderscheiden:

Testsoort

Uitvoering

Selectie monsterpunten

Aanvullende informatie

Metingen

Bewerking en weergave resultaten

Verslaglegging

Geldigheid

In bijlage 3 is ook een schatting gemaakt van de kosten van het uitvoeren van de bioassays. Hierbij is onderscheid gemaakt tussen eenmalige kosten voor het opstarten van de proeven en de kosten bij herhaling van de bioassays. Deze kosten hebben betrekking op het uitvoeren van een "standaard" onderzoek volgens de richtlijnen in bijlage 3, waarbij 20 monsterpunten worden meegenomen. De kosten voor eventuele metingen van bestrijdingsmiddelen zijn hierin niet meegenomen. Samengevat staan de kosten weergegeven in tabel 3.5.

Tabel 3.5 Schatting van de kosten van een veldbioassay met watervlooien en met kroos (één bioassay experiment bestaat uit 20 monsterpunten).

	Enmalig	Herhaalde uitvoering
Watervlooien	f 11.500,-	f 7.800,-
Kroos	f 12.000,-	f 9.000,-

3.4 Stap 4: Interpretatie

Om het effect van een bestrijdingsmiddel aan te tonen moet dit effect kunnen worden onderscheiden van de "natuurlijke" variatie. De variatie in de niet blootgestelde bioassays mag daarom niet al te groot zijn.

Watervlooiën

In het geval van watervlooiën blijkt uit de praktijkvoorbeelden (zie Hfst. 4) dat er in de niet blootgestelde bioassays gemiddeld een sterfte is van 10%, waarbij de maximaal gevonden sterfte 30% is. Als vuistregel wordt daarom gehanteerd dat als de referentie aan de bovengenoemde voorwaarden voldoet (sterfte niet groter dan 30%), de proef in principe geldig is. Als de sterfte in de blootgestelde bioassays nu groter is dan die in de referentie dan wordt dit in principe als een effect van bestrijdingsmiddelen gekenmerkt. Vervolgens wordt een getrapte procedure gevolgd: vindt men een effect op één of enkele monsterpunten, dan vormt dit aanleiding om dit punt in de tijd te volgen, maar nog niet direct een aanleiding om tot metingen over te gaan. Vindt men echter op meer dan 30% van de blootgestelde punten een overschrijding, of op één punt op meerdere tijdstippen, dan vormt dit wel aanleiding om tot metingen over te gaan (zie stroom-schema 3).

Als er in de referentie meer dan 30% sterfte optreedt is de toets in principe ongeldig. Dit wil echter nog niet zeggen dat grote effecten in de blootgestelde bioassays niet indicatief kunnen zijn voor effecten van bestrijdingsmiddelen (bijvoorbeeld: 50% sterfte in de referenties, 100% in de blootgestelde bioassays). Als dit het geval is, vormt dit aanleiding om de toets te herhalen. De procedure wordt in tabel 3.6 samengevat weergegeven.

Tabel 3.6 Interpretatie van de effecten in de blootgestelde bioassay met watervlooiën in relatie tot de effecten in de referentie.

Sterfte in blootgestelde bioassays (%)	Sterfte in referentie (%)						
		Toets geldig			Toets ongeldig		
		≤10	11-20	21-30	31-50	51-70	> 70
≤ 10							
11-20							
21-30							
31-50							
51-70							
>70							

Significant effect

Indicatief effect

Kroos

Met bioassays met kroos is in het veld nog relatief weinig ervaring opgedaan. Dit betekent dat de groeisnelheid in referentiesituaties niet goed bekend is. Wel is uit literatuurgegevens af te leiden dat de groeisnelheid in de zomermaanden (mei-augustus) minimaal 0,1 per dag moet zijn (Stowa, 1992a). Vergelijkbaar met de watervlooiëntoets kan hier worden aangegeven dat de toets (in deze periode) in principe geldig is als de groei in de onbelaste situatie groter is dan 0,1 per dag.

Buiten deze periode moet een correctie voor de temperatuur worden aangebracht:

$$g = 0,20 \times (0,05(t - 25) + 1)$$

waarin g = de groeisnelheid per dag
en t is de temperatuur in °C

Wanneer de groeisnelheid in de referenties groter of gelijk is aan de resulterende waarde is de toets ook in deze periode geldig.

De effecten in de blootgestelde bioassays kunnen vervolgens worden uitgedrukt als percentage groeiremming ten opzichte van de referentie (zie richtlijn, bijlage 3.2). De grens voor het al dan niet vaststellen van een effect wordt gelegd bij een groeiremming van 10% of groter.

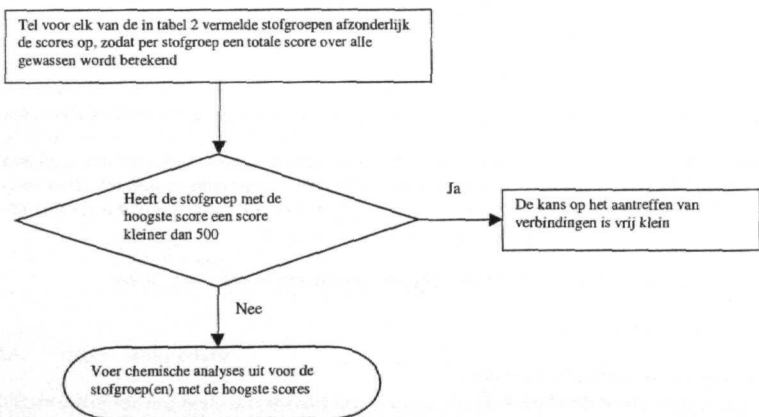
Na het vaststellen van een effect wordt een vergelijkbare procedure gevolgd als bij de water-vlooi-toets: een effect op één punt geeft aanleiding tot herhaling van de bioassay. Een effect op meerdere punten, of herhaaldelijk in de tijd, kan aanleiding geven tot metingen.

Procedure voor identificatie van de belangrijkste stofgroep (stroomschema 3).

Zoals hierboven aangegeven, zullen de resultaten van de bioassays soms aanleiding geven tot het uitvoeren van chemische analyses, om achter de identiteit van de verantwoordelijke verbindingen te komen. Het is meestal om financiële redenen echter niet haalbaar om het gehele scala aan gewasbeschermingsmiddelen te laten analyseren. Daarom wordt onderstaand een procedure geschetst voor identificatie van de belangrijkste stofgroep.

Chemische analyse dient zich vooral te richten op de stofgroepen met de hoogste score (tabel 3.2). Stofgroepen met scores beneden de 500 zullen in het algemeen in vrij lage concentraties aanwezig zijn (beneden concentraties die effecten veroorzaken). Chemische analyse van water-monsters op de betreffende stofgroep kan in dat geval achterwege blijven. De chemische analyse van zeer slecht wateroplosbare stoffen zoals pyrethroiden en organotin verbindingen in de waterfase is niet raadzaam. Dergelijke verbindingen migreren snel naar sediment en zwevend stof, zodat chemische analyse van dergelijke verbindingen vooral in sediment dient te gebeuren.

Stroomschema 3. Identificatie van de belangrijkste stofgroepen



Een precisering van de keuze van de chemisch te analyseren stofgroepen kan worden gebaseerd op aanvullende informatie uit het gebied. Het meest relevant is informatie omtrent het werkelijke stofgebruik in de 2 of 3 teelten met de hoogste maximum score.

Vanuit het beleid gezien is een logische vervolgstap het vergelijken van de aangetroffen gehalten met het MTR. Maatregelen (bijvoorbeeld emissie-beperking) zouden zich dan prioritair op die stoffen moeten richten, waarvoor het MTR het meest wordt overschreden. Voor het vervolgens monitoren van de effecten van deze maatregelen komen in eerste instantie chemische metingen in aanmerking, en vervolgens pas bioassays. Men is dan immers in de beschreven procedure in hoofddoel 1b, een specifieke vraag, terecht gekomen (zie § 3.1). De bioassays hebben dan als doel om aan te tonen dat de afname van de concentraties ook daadwerkelijk tot afname van de effecten leiden. Als dit inderdaad het geval is, is de aanpak geslaagd. Blijken de effecten niet afgenomen, dan waren kennelijk andere stofgroepen de oorzaak en moet deze stap opnieuw worden doorlopen.

In de beschreven procedure is er steeds vanuit gegaan dat de uitkomsten uit de bioassays volgens verwachting waren. Het is uiteraard ook mogelijk dat er effecten worden gevonden op plaatsen waar dit niet werd verwacht, of dat er geen effecten worden gevonden op plaatsen waar dat wel werd verwacht. Hierbij wordt er steeds wel vanuit gegaan dat de resultaten geldig zijn: goede resultaten in de referenties, en geen andere oorzaken voor effecten.

Indien er effecten optreden die niet werden verwacht wordt aanbevolen om na te gaan welke middelen er daadwerkelijk in de betreffende periode zijn gebruikt; zoals immers reeds aangegeven is de beschreven procedure gebaseerd op het middelenpakket 1995; bovendien kunnen er altijd lokale afwijkingen in gebruik voorkomen. De resultaten van dit navragen kunnen aanleiding geven tot een verklaring (in de procedure meegenomen middelen) of een verdenking (niet meegenomen middelen). Het is echter altijd mogelijk dat er andere factoren een rol hebben gespeeld (ziekte, predatie, niet gemeten factoren, of niet gemeten schommelingen in parameters). In het geval er geen effecten optreden waar dit wel werd verwacht is het ook noodzakelijk om na te gaan welke middelen er nu daadwerkelijk zijn gebruikt. Als de verwachte middelen in de betreffende periode niet zijn gebruikt geeft dit direct een verklaring; als de middelen wel zijn gebruikt, kunnen er nog redenen zijn waarom er bijvoorbeeld geen blootstelling heeft plaatsgevonden. Door een bepaalde windrichting of toedieningswijze kan het middel bijvoorbeeld niet in het oppervlaktewater terecht zijn gekomen. Ook kan door een gebrek aan stroming in de betreffende periode een middel de bioassays niet bereiken.

4. VOORBEELDUITWERKING EN PRAKTIJKERVARINGEN

In de hoofdstuk wordt het stappenplan, gepresenteerd in hoofdstuk 3, toegepast op een voorbeeldgebied (de Bommelerwaard) (§ 4.1) en op twee praktijksituaties (Bollenstreek en Haarlemmermeerpolder), (§ 4.2) waar in het kader van dit project veldbioassays zijn toegepast. De nadruk bij het eerste voorbeeld ligt op stappenplan (met name de specificatie) zelf, terwijl bij het tweede voorbeeld ook de praktijkuitvoering van de bioassays is betrokken. In § 4.3 wordt vervolgens een aantal praktijk ervaringen besproken. De gegevens hiervoor zijn afkomstig van interviews, literatuur en in het kader van dit project uitgevoerd onderzoek.

4.1 Voorbeeld van toepassing van de methodiek op de Bommelerwaard.

De berekeningen die in de verschillende stappen worden uitgevoerd worden gedemonstreerd door ze toe te passen op een voorbeeld-gebied (de Bommelerwaard), omdat van dit gebied reeds veel gegevens beschikbaar waren. De belangrijkste kenmerken van het gebied zijn beschreven in bijlage 4.

Stap 1: Doelbepaling (Stroomschema 1)

Het doel van het toepassen van het stappenplan op de Bommelerwaard is vooral het demonstren van stap 2, de specificatie en te laten zien op welke teelten, stofgroepen en bioassays het stappenplan uitkomt in een concreet gebied.

Als voorbeeld voor het doorlopen van stap 1, de doelbepaling, is een fictief doel geformuleerd wat door de lokale waterkwaliteitsbeheerder zou kunnen zijn opgesteld: Een gedeelte van het uit de Bommelerwaard afkomstige oppervlaktewater wordt gebruikt voor drinkwaterbereiding (via de afgedamde Maas). Er bestaat bezorgdheid omtrent de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen in het water, en de waterkwaliteitsbeheerders willen weten waar deze middelen vandaan komen. Hiertoe wordt reeds op dit moment een aantal middelen gemeten op een aantal punten. Omdat metingen slechts momentopnamen zijn en ook niet alle middelen gemeten kunnen worden, kan de behoefte bestaan om door middel van bioassays een vinger aan de pols te houden en te bezien of er een aanleiding bestaat om het chemische meet-schema aan te passen of uit te breiden. Om te bezien waar en welke bioassays zinvol zijn moet stap 2 van het stappenplan worden doorlopen.

Stap 2: Specificatie

Stap 2.1: Gebiedsbeschrijving

Een uitgebreide beschrijving van het gebied wordt gegeven in bijlage 4.

Stap 2.2: Gewaskeuze (Stroomschema 2a)

In het voorbeeldgebied komt veel grasland voor (veeteelt), met daarnaast enkele akkerbouwgewassen. De gewassen met het grootste areaal zijn opgenomen in Tabel 4.1. Bovendien komt er in het gebied ook glastuinbouw voor. De 3 glastuinbouwgewassen met het grootste areaal zijn eveneens toegevoegd aan de gewassenlijst (Tabel 4.1). De gegevens over teelten en oppervlakten zijn afkomstig van het CBS (zie bijlage 4). Aannemende dat het gaat om de blootstelling in het zomerhalfjaar, zijn in tabel 4.1 vervolgens de I, H en F- scores ingevuld afkomstig uit tabel Bijlage 2.2a.

Stap 2.3: Bepaling van het type effect dat mag worden verwacht (Stroomschema 1b).

Voor elk der gewassen is een "areaal gecorrigeerde" I-, H- en F-score berekend door de in Tabel 4.1 opgenomen score te vermenigvuldigen met de areaalfactie (gewas areaal/totaal gewasareaal). Deze zijn weergegeven in Tabel 4.2. Voor elk gewas is tevens de hoogste van de 3 gecorrigeerde (I-, H- en F-) scores (de "groepsscore") in Tabel 4.2 aangegeven.

Stap 2.4: Keuze van het bioassay (Stroomschema 2c).

De I-, H- en F-score van het gebied is bepaald door de areaal gecorrigeerde scores voor de verschillende gewassen bij elkaar op te tellen. De totalen zijn onderaan Tabel 4.2 weergegeven.

Tabel 4.1 Overzicht van de belangrijkste gewassen in de regio en hun scores; I-, H-, F-score en stofgroep zijn voor elk gewas ontleend aan de "Scorelijst voor gewassen" (Bijlage 2.2).

	Gewas	Areaal	I-score	H-score	F-score	Stofgroep
1	Grasland	6469	23	2	0	
2	Snijmais	970	251	552	0	Organochloor, Triazines
3	Appels	300	2791	0	2799	Organofosfor
4	Aardappel	234	869	1915	3594	Organotin
5	Wintertarwe	194	424	225	0	Pyrethroiden, Ureumherbiciden
6	Peren	156	1889	0	15312	Dithiocarbamaten
7	Suikerbieten	85	328	120	0	Organochloor
G1	Chrysant	92	173807	0	0	Organofosfor
G2	Fresia	30	71062	0	0	Organofosfor
G3	Aardbei	16	5947	0	6039	Organofosfor
	Totaal areaal	8546				

Tabel 4.2 Areaalgecorrigeerde I-, H- en F-scores voor de afzonderlijke stoffen in het beschreven gebied.

	Gewas	Areaal-factie	I _{areaal}	H _{areaal}	F _{areaal}	Hoogste Groepsscore
1	Grasland	0,757	17	2	0	17
2	Snijmais	0,113	25	63	0	63
3	Appels	0,035	98	0	98	98
4	Aardappel	0,027	24	52	98	98
5	Wintertarwe	0,023	10	5	0	10
6	Peren	0,018	34	0	280	280
7	Suikerbieten	0,010	3	1	0	3
G1	Chrysant	0,011	1871	0	0	1871
G2	Fresia	0,004	249	0	0	249
G3	Aardbei	0,002	11	0	11	11
	Totaal:	1,000	2342	123	489	

Een score boven de 500 in tabel 4.2 geeft aan dat de kans op het optreden van effecten aanwezig is en dat het raadzaam is het betreffende bioassay uit te voeren. Voor het voorbeeldgebied resulteert dit in een gecorrigeerde I-score die verreweg het hoogst van de 3 scores is en ruim boven de 500 ligt. Een bioassay met de watervlo verdient voor het betreffende gebied dan ook de voorkeur. Dit wordt bevestigd door de F-score die eveneens dicht bij de 500 ligt. Een bioassay met de kroostoets lijkt, gezien de lage H-score niet zinvol.

Stap 3: Uitvoering van de bioassays.

In de Bommelerwaard zijn geen bioassays uitgevoerd. Het stappenplan is vooral toegepast om stap 2 te demonstreren. Ook gegevens over overige factoren ontbreken, zodat niet kan worden aangegeven of de toets zinvol kan worden ingezet.

Stap 4: Identificatie belangrijkste stofgroep (stroomschema 3).

Als er in de bioassays inderdaad effecten worden aangetroffen moet vervolgens worden gekeken welke stoffen hier mogelijk voor verantwoordelijk zijn. Voor de gebruikte gewassen uit het gebied is voor iedere stofgroep die in Tabel 4.1 voorkomt de bijbehorende groepsscore uit Tabel 4.2 afgelezen. Voor het gegeven voorbeeld resulteert dit in de volgende tabel:

Stofgroep	Groepsscore
organochloor-verbindingen	$63 + 3 = 66$
organofosfor-verbindingen	$98 + 1871 + 249 + 11 = 2229$
organotin-verbindingen	98
pyrethroiden	10
dithiocarbamaten	280

Chemische analyse dient zich vooral te richten op de organofosfor-insecticiden. Van de andere groepen wordt verwacht dat de concentraties over het algemeen ruimschoots beneden toxicologische effectconcentraties zullen zijn (mogelijke uitzondering: dithiocarbamaten, die echter chemisch lastig te bepalen zijn).

Uit de beschrijving van het gebied (bijlage 4) blijkt dat in oppervlaktewater in het voorbeeldgebied geregeld verbindingen in concentraties boven hun MTR worden aangetroffen. Het betreft dan vooral organofosforverbindingen, naast carbamaten, ureum-herbiciden en triazines. De beide laatste herbiciden kwamen niet uit de procedure naar voren als hoogste groepsscore, maar zijn echter wel genoemd bij resp. snijmaïs en wintertarwe. De procedure voorspelt dus in principe goed de aanwezige middelen.

4.2 Voorbeelden van toepassing van de methodiek op de Hogeveense polder en op de Haarlemmermeerpolder.

In twee polder zijn de bioassays concreet uitgevoerd. Het ging hierbij in eerste instantie vooral om te testen of de bioassays in de praktijk functioneerden. Het volledig doorlopen van het stappenplan was hierbij van secundair belang. In bijlage 5 worden de veldexperimenten beschreven. Onderstaand wordt voor de beide gebieden het stappenplan doorlopen.

4.2.1 Hogeveense Polder

Stap 1: Doelbepaling (Stroomschema 1)

In de bloembollenteelt worden relatief veel bestrijdingsmiddelen gebruikt. Het betreffende gebied ligt in het hart van de bollenstreek. De telers hebben middels een convenant afspraken gemaakt over een aantal te bereiken milieudoelstellingen (Convenant "Overeenkomst Uitvoering Milieubeleid Bloembollensector").

Incidentele meetprogramma's wijzen erop dat er bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater terecht komen; door de veelheid van bespuitingen en middelen is het echter haast onmogelijk om een allesomvattend beeld te verkrijgen. Bioassays zouden in het betreffende gebied op twee manieren bij kunnen dragen: de uitkomsten zouden indicaties kunnen geven voor de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen. Er bestaat behoefte aan monitoring en aan het toetsen van de effectiviteit van de maatregelen. Daarnaast kunnen duidelijke effecten in de bioassays een bijdrage leveren aan de communicatie met de telers. In het verleden is een experimenteel onderzoek uitgevoerd in dezelfde polder naar de effecten op watervlooiën van bepaalde bespuitingen; hierbij is echter niet vooraf vastgesteld of effecten waren te verwachten. Het vooraf doorlopen van de specificatie lijkt derhalve zeer zinvol.

Stap 2: Specificatie

Stap 2.1: Gebiedsbeschrijving

Een gebiedsbeschrijving wordt gegeven in bijlage 5. Voor de selectie van de concrete monitorlocaties is een kaart toegevoegd waarop de watergangen zijn ingetekend. De waterstroming in het betreffende gebied is in principe duidelijk; er is één hoofdgemaal en één inlaatpunt.

Stap 2.2: Gewaskeuze (Stroomschema 2a)

In het gebied worden voornamelijk bloembollen geteeld, maar ook bloemen. De areaal gegevens zijn ontleend aan de CBS landbouwdatabank (zie bijlage 5). Hierbij zijn de gegevens voor de gemeente Noordwijkerhout genomen. De gewassen met het grootste areaal zijn opgenomen in Tabel 4.3. Bovendien komt er in het gebied ook glastuinbouw voor. Uit de CBS-gegevens is echter niet voldoende gespecificeerd te achterhalen om welke glastuinbouwgewassen het hier gaat, zodat niet is aan te geven welke middelen in het oppervlaktewater mogen worden verwacht. De glastuinbouwgewassen konden derhalve niet worden opgenomen. Het verdient aanbeveling om, als men een bepaald gebied wil onderzoeken, gedetailleerder na te gaan welke teelten hier plaatsvinden.

Het experiment is uitgevoerd voor week 36; in het gebied waren echter voornamelijk braakliggende percelen aanwezig, zodat het zeer de vraag is in hoeverre hier nog "zomer" bespuitingen plaatsvonden; 1999 was een relatief warm jaar, waardoor de meeste gewassen eerder waren geoogst dan in andere jaren. Om deze reden is toch de belasting van het winterhalfjaar gekozen en zijn in tabel 4.3 vervolgens de I, H en F-scores ingevuld afkomstig uit tabel Bijlage 2.2b. Als vergelijking is ook het zomerhalfjaar doorgerekend. Hieruit blijkt dat de verschillende bolgewassen in het zomerhalfjaar tot hoge scores aanleiding geven (zie tabel Bijlage 2.2a). Hieruit wordt geconcludeerd dat het in het betreffende gebied veel zinvoller is om de bioassays eerder in het seizoen, tijdens de teeltfase, in te zetten.

Stap 2.3: Bepaling van het type effect dat mag worden verwacht (Stroomschema 2b).

Voor elk der gewassen is een "areaal gecorrigeerde" I-, H- en F-score berekend door de in Tabel 4.3 opgenomen score te vermenigvuldigen met de areaalfractie (gewas areaal/totaal gewasareaal). Deze zijn weergegeven in Tabel 4.4. Voor elk gewas is tevens de hoogste van de 3 gecorrigeerde (I-, H- en F-) score (de "groepsscore") in Tabel 4.4 aangegeven.

Stap 2.4: Keuze van het bioassay (Stroomschema 2c).

De I-, H- en F-score van het gebied is bepaald door de areaal gecorrigeerde scores voor de verschillende gewassen bij elkaar op te tellen. De totalen zijn onderaan Tabel 4.4 weergegeven.

Tabel 4.3 Overzicht van de belangrijkste gewassen in de regio en hun scores voor de "winter" toepassingen; *cursief* staan de getallen voor het zomerseizoen weergegeven I-, H-, F-score en stofgroep zijn voor elk gewas ontleend aan de "Sco-
relijst voor gewassen" (bijlage 2.2).

	Gewas	Areaal	I-score	H-score	F-score	Stofgroep
1	Tulp	374	0 11815	63 0	3 797	<i>pyrethroiden</i>
2	Hyacint	290	0 28899	22 0	4 497	<i>pyrethroiden</i>
3	Narcis	229	0 716	50 0	0 609	<i>pyrethroiden</i>
4	Gladiol	64	0 2284	0 0	38 620	<i>pyrethroiden</i>
	Totaal areaal	957				

Tabel 4.4 Areaalgecorrigeerde I-, H- en F-scores voor de afzonderlijke stoffen in het beschreven gebied voor de winter toepassingen; *cursief* staan de scores voor de zomer toepassingen weergegeven.

	Gewas	Areaal- fractie	I _{areaal}	H _{areaal}	F _{areaal}	Hoogste Groepsscore
1	Tulp	0,39	0 4607	25 0	1 311	25 4607
2	Hyacint	0,30	0 8670	7 0	1 149	7 8670
3	Narcis	0,24	0 172	12 0	0 146	12 172
4	Gladiol	0,07	0 160	0 0	2 43	2 160
	Totaal:	1,000	0 13609	44 0	4 649	

Uit tabel 4.2 blijkt dat alle scores in het winterseizoen ver onder de 500 blijven. Daarom zou op basis van deze benadering zijn besloten dat het inzetten van een veldbioassay in het winterseizoen niet zinvol is. In het zomerseizoen worden er heel andere scores gevonden. Voor de insecticiden is de score ver boven de 500 punten. Een bioassay met watervlooien lijkt dan ook in het zomerseizoen zeer zinvol. De Herbicide score is in het zomerseizoen gelijk aan 0, en ook de Fungicide score is maar net boven de 500 punten. Het uitvoeren van een bioassay met kroos lijkt dan ook niet zinvol.

Stap 3: Uitvoering van de bioassays.

Het uitvoeren van de bioassays in de Hogeveense polder had als voornaamste doel het uittesten van de toepasbaarheid; daarom zijn de bioassays hier uitgevoerd op een moment dat er niet veel middelen meer werden gebruikt. Uit de fysisch-chemische metingen (Bijlage 5.6) blijkt dat de omstandigheden zich binnen de marges van de toets bevinden. Eén monsterpunt in het referentie gebied betrof een uitzonderlijk "mooie" geïsoleerde en nutriëntarme sloot (sloot 3, zie bijlage 5). In deze sloot waren ook de nutriëntengehalten relatief laag. Hoewel de waarden zich binnen de marges van de toets bevonden bestond hier de indruk dat er door de lage nutriëntengehalten weinig algengroei was, en daarmee weinig voedsel voor de watervlooien. Mogelijk vormt dit een verklaring voor de hoge sterfte op dit punt.

Bij de uitvoering van de bioassays deden zich tal van praktische problemen voor (zie bijlage 5), die onder andere een negatieve invloed hadden op de gevoeligheid van de toets. Ondanks dat de monsterpunten op plaatsen lagen, die in principe niet openbaar toegankelijk waren, waren er toch enkele kroosopstellingen vernield of onder water getrokken. Daarnaast bleek de gebruikte constructie voor de watervlooien potten gaten te bevatten, zodat er in de potjes soms veel andere organismen werden aangetroffen, en er waarschijnlijk ook watervlooien zijn ontsnapt. Bij de kroosbioassays bleek dat er veel kroos van buiten in de bakjes terecht

kwam. Naar aanleiding hiervan zijn de opstellingen en de protocollen aangepast en zijn de aangepaste opstellingen toegepast in het tweede experiment in de Haarlemmermeerpolder.

Stap 4: Interpretatie van de resultaten; Identificatie belangrijkste stofgroep (stroom-schema 3).

Uit de resultaten (zie bijlage 5) blijkt dat er bij de watervlooiën in de referentie gemiddeld meer dan 30% sterfte optreedt (gemiddeld 40%). Dit betekent dat de toets in principe niet geldig is. Volgens tabel 3.6 is er alleen op monsterpunten met meer dan 50% sterfte een indicatief effect. Dit is op twee monsterpunten het geval. In de procedure zou dit aanleiding vormen om de toets te herhalen.

Ook bij de kroostoets blijft de groei gemiddeld onder de 0,1 (nl. 0,04/dag). Ook als de correctie voor de temperatuur wordt toegepast (er is een gemiddelde temperatuur van 18°C aangenomen), is de gemiddelde groei in de referenties (0,065) nog te laag. Gezien het vermoeden dat er grote hoeveelheden kroos in en uit de potjes is gegaan, ligt de oorzaak hiervan waarschijnlijk in de proefopstelling. Volgens de procedure kan de toets dus slechts indicaties opleveren. Op twee monsterpunten is de groei 10% lager dan de groei in de referenties. Dit zou in de procedure de aanbeveling opleveren om de toets te herhalen.

Vanwege het oriënterende karakter zijn er op de monsterpunten toch watermonsters geanalyseerd op een pakket aan bestrijdingsmiddelen. Hieruit blijkt dat er regelmatig middelen worden aangetroffen, in het geval van de insecticiden pirimicarb en propoxur zelfs in resp. 2 en 1 monsterpunt boven hun MTR. Dit zijn overigens niet de monsterpunten waar een indicatie van een effect werd verkregen. Opvallend is dat het meest aangetroffen middel (DEET) gebruikt wordt op vee tegen parasieten. Uit de gevolgde procedure zou dit middel niet naar voren zijn gekomen. Gezien de toxiciteit van het middel zijn effecten in de bioassays van dit middel niet te verwachten. Voor wat betreft de kroostoets is er op de punten waar indicaties voor een effect zijn verkregen geen verhoogd gehalte aan herbiciden gevonden.

4.2.2 Haarlemmermeerpolder

Stap 1: Doelbepaling (Stroomschema 1)

De Haarlemmermeerpolder is een grootschalig akkerbouwgebied, waar bestrijdingsmiddelgebruik over grote oppervlakten plaatsvindt. Men heeft de indruk dat de belasting van het oppervlaktewater met bestrijdingsmiddelen meevalt. Bioassays kunnen hier indicaties geven of dit inderdaad het geval is. Om te bezien of bioassays inderdaad zinvol zijn wordt het stappenplan doorlopen. Daarnaast speelde hier voor dit onderzoek het doel dat uitgetoetst moest worden of de aanpassingen aan de bioassays effectief zijn geweest. Daarom zijn beide bioassays, ongeacht de uitkomst van het stappenplan, toch uitgevoerd.

Stap 2: Specificatie

Stap 2.1: Gebiedsbeschrijving

Een gebiedsbeschrijving wordt gegeven in bijlage 5. Voor de selectie van de concrete monsterlocaties is een kaart toegevoegd waarop de watergangen zijn ingetekend. De waterstroming in het betreffende gebied is in principe erg overzichtelijk, de inlaat vindt plaats vanuit de oostzijde; het water wordt weggemalen naar de hoofdvaart.

Stap 2.2: Gewaskeuze (Stroomschema 2a)

De aanpak is analoog aan de vorige twee voorbeelden; hier worden alleen de resultaten (tabel 4.5) gegeven.

Stap 2.3: Bepaling van het type effect dat mag worden verwacht (Stroomschema 1b).

Zie bij 4.2.1. Voor de resultaten zie tabel 4.6.

Tabel 4.5 Overzicht van de belangrijkste gewassen in de regio en hun scores voor de "winter" toepassingen; *cursief* staan de getallen voor het zomerseizoen weergegeven; voor de teelten onder glas is de score voor winter en zomer seizoenen gelijk; I-, H-, F-score en stofgroep zijn voor elk gewas ontleend aan de "Scorelijst voor gewassen" (bijlage 2.2).

	Gewas	Areaal	I-score	H-score	F-score	Stofgroep
1	Wintertarwe	3212	0 <i>424</i>	12 <i>225</i>	0	<i>pyrethroiden, ureum-herbiciden</i>
2	Consumptie aardappelen	2060	0 <i>869</i>	0 <i>1915</i>	0 <i>3594</i>	<i>organotin</i>
3	Suikerbieten	1998	0 <i>328</i>	0 <i>120</i>	12	<i>organochloor</i>
4	graszaad	602	28 <i>111</i>	48 <i>121</i>	0	
G1	Potplanten	48	14640	129455	3522	<i>lenacil, uracil</i>
G2	Rozen	43	55897			
	Totaal areaal	7963				

Tabel 4.6 Areaalgecorrigeerde I-, H- en F-scores voor de afzonderlijke stoffen in het beschreven gebied voor de winter toepassingen; *cursief* staan de scores voor de zomer toepassingen weergegeven.

	Gewas	Areaal-fractie	I _{areaal}	H _{areaal}	F _{areaal}	Hoogste Groepsscore
1	Wintertarwe	0,40	0 <i>170</i>	5 <i>90</i>	0	<i>5 170</i>
2	Consumptie aardappelen	0,26	0 <i>225</i>	0 <i>498</i>	0 <i>934</i>	0 <i>934</i>
3	Suikerbieten	0,25	0 <i>82</i>	0 <i>30</i>	3 <i>3</i>	3 <i>82</i>
4	graszaad	0,07	2 <i>8</i>	3 <i>8</i>	0	3 <i>8</i>
G1	Potplanten	0,006	88 <i>88</i>	776 <i>776</i>	21 <i>21</i>	776
G2	Rozen	0,005	279 <i>279</i>	0	0	279
	Totaal:	1,000	369 <i>852</i>	784 <i>1402</i>	24 <i>958</i>	

Stap 2.4: Keuze van het bioassay (Stroomschema 2c).

De I-, H- en F-score van het gebied is bepaald door de areaal gecorrigeerde scores voor de verschillende gewassen bij elkaar op te tellen. De totalen zijn onderaan Tabel 4.6 weergegeven. Uit de uitkomsten blijkt dat vanwege de hoge score bij de potplanten een bioassay met kroos ook in het "winterseizoen" zinvol wordt geacht. Hierbij moet bedacht worden dat er in dit seizoen dus geen indruk wordt verkregen van de effecten van de grootschalige akkerbouw, maar de vraag zich specifiek op de effecten van één, kleinschalige teelt gaat richten. Een terugkoppeling naar de doelstelling laat dan zien dat het uitvoeren van bioassays in het "winterseizoen" voor het beantwoorden aan de doelstelling weinig zinvol is. Uit tabel 4.6 blijkt tevens dat er in het zomerseizoen wel effecten in beide typen bioassay verwacht mogen worden.

Stap 3: Uitvoering van de bioassays.

Omdat het uitvoeren van de bioassays een ander doel had, namelijk het testen van de effecten van de aanpassingen, zijn toch op alle punten beide bioassays uitgevoerd. Uit de fysisch chemische metingen (Bijlage 5.6) blijkt dat de omstandigheden zich binnen de marges van de toets bevinden, met uitzondering van een punt (7), waar het fosfaatgehalte beneden de grens van de toets valt. Gezien de grote spreiding in de uitkomsten van de kroostoets, is niet duidelijk of dit tot een effect in de bioassay heeft geleid.

Voor wat betreft de uitkomsten van de bioassays moet worden opgemerkt dat de watervlooi-entoets goed functioneerde. De sterfte was in het algemeen gering; op één punt trad 100% sterfte op, wat duidt op een effect. De verbeterde opstelling had tot effect dat er geen andere organismen meer en de potten terecht kwamen en er (waarschijnlijk) ook geen watervlooiën meer ontsnapten. Het protocol is op dit punt gehandhaafd.

Ook bij de kroostoets was de opstelling verbeterd, en hierdoor was er minder verstoring door verdwijnen of toevoer van kroos van buiten de bioassay (zie bijlage 5). De resultaten vertonen echter nog steeds een grote spreiding. De toets dient dan ook nog nader uitgetest te worden.

Stap 4: Interpretatie van de resultaten; Identificatie belangrijkste stofgroep (stroom-schema 3).

Voor wat betreft de kroostoets geldt dat de gemiddelde groei in de referentie slechts 0,03 was, waarmee de toets niet geldig is. Het late tijdstip in het seizoen is hiervan waarschijnlijk de oorzaak. Er is een aantal blootgestelde punten waar de groei meer dan 10% lager is dan in de referenties. Volgens de procedure zou dit aanleiding vormen om de toets te herhalen. Uit de bestrijdingsmiddelen bepalingen blijkt geen duidelijke correlatie tussen de aanwezigheid van middelen en de verlaagde groeisnelheid.

De gemiddelde sterfte van watervlooiën op de referentiepunten is 20%. Dit betekent dat de toets in principe geldig is en een sterfte van meer dan 20% in een blootgestelde bioassay in principe als een effect wordt gekenmerkt. Dit is op twee monsterpunten het geval. Aangezien dit minder dan 30% van de blootgestelde monsterpunten is, zou dit aanleiding geven om de toets te herhalen. Vanwege het oriënterende karakter zijn toch watermonsters geanalyseerd op een pakket aan bestrijdingsmiddelen. Hieruit blijkt dat er regelmatig middelen worden aangetroffen, in het geval van twee insecticiden (pirimicarb en mevinfos zelfs resp. op 2 en 1 monsterpunt(en) boven hun MTR. Op het punt waar de het hoogste gehalte pirimicarb werd aangetroffen trad 100% sterfte van de watervlooiën op. Op de andere twee punten met een overschrijding van het MTR werd echter een zeer geringe sterfte gevonden. De uitkomsten geven een duidelijke indicatie dat de bioassay werkt om de effecten van een hoge concentratie van een insecticide aan te tonen.

4.3 Praktijkervaringen

In bijlagen 5 t/m 8 worden verschillende praktijkervaringen beschreven. Het algemene beeld hieruit wordt hieronder samengevat weergegeven. De praktijkervaringen hebben voornamelijk betrekking op de watervlooiëntoets. De kroostoets is alleen binnen het huidige project uitgevoerd. Hierop wordt apart teruggekomen.

Uit de verschillende praktijkervaringen kan worden geconcludeerd dat de watervlooiendoets voor wat betreft de technische uitvoering in het algemeen nauwelijks problemen oplevert. Wanneer gezonde watervlooiën worden genomen, en er enige ervaring is opgedaan met het inzetten, is de overleving van de watervlooiën op onbelaste monsterpunten in het algemeen zeer hoog (altijd groter of gelijk aan 70%, vaak 100%). In een aantal gevallen worden duidelijke resultaten gevonden en kan een eenduidige correlatie met bestrijdingsmiddelen worden gelegd. In een aantal gevallen is dit niet zo duidelijk. Het probleem is dan dat de uitkomsten van de bioassay niet aan de verwachting voldoen, of niet direct aan bestrijdingsmiddelen kunnen worden gekoppeld. Vaak concludeert men dan dat de toets onbruikbaar is. In de praktijk komen er twee omstandigheden voor:

1. de toets geeft geen effect te zien, terwijl dit wel werd verwacht. Vaak is in dit geval niet goed vooraf gekeken of er in de betreffende periode middelen worden gebruikt die tot effecten in de bioassay aanleiding zouden kunnen geven. De toepassing van het stappenplan zou hier een belangrijke bijdrage kunnen leveren. Ook herhalingen in de tijd kunnen de kans op foute interpretaties, bijvoorbeeld door toevallige weersomstandigheden, verkleinen. Ook is het van belang om hier goed te onderzoeken of er daadwerkelijk blootstelling plaatsvindt.
2. de toets geeft een effect te zien, terwijl dit niet werd verwacht. Een dergelijke uitkomst (mits niet eenmalig) dient nu juist aanleiding te vormen om op zoek te gaan naar de oorzaken. Hiertoe kan worden begonnen met het doorlopen van het stappenplan, inclusief eventuele chemische metingen. Mocht dit niet tot resultaat leiden, dan zal verder onderzoek noodzakelijk zijn, waarbij bijvoorbeeld gedacht kan worden aan andere middelen, of bijvoorbeeld combinatietoxiciteit. Als dit alles niet het geval lijkt te zijn, kan nog worden nagegaan of er wellicht aanwijzingen zijn voor andere bronnen zoals lozingen of illegaal gebruik.

Voor wat betreft de kroosbioassay is er vooral ervaring met laboratoriumtoetsen en met enkele proefveld- en mesocosmexperimenten (STOWA, 1997b, Lahr *et al.*, 1998, De Jong & Bergema, 1995). Deze gegevens laten zien dat kroos in principe gevoelig is voor een aantal herbiciden. De enige ervaringen met de kroostoets als veldtoets zijn opgedaan in het onderhavige project (zie bijlage 5). Uit deze ervaringen blijkt echter voornamelijk dat de toets te ongevoelig lijkt om in het veld effecten van herbiciden aan te kunnen tonen. Daarom wordt voorlopig het uitvoeren van een kroostoets nog niet aanbevolen.

5. DISCUSSIE, CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

5.1 Discussie

Stappenplan

De gepresenteerde methodiek geeft een leidraad bij de keuze van het geschikte type bioassay en bij de selectie van bestrijdingsmiddelen waarvoor chemische analyse in oppervlaktewater zinvol is. Gezien de breedte van het middelenpakket dat tegenwoordig in de landbouw wordt toegepast is het niet eenvoudig om tot algemeen geldende uitspraken te komen. Het is dan ook moeilijk om te voorspellen of de methode in alle gevallen tot succes zal leiden. Onderstaand worden een aantal beperkingen met mogelijke oplossingen besproken.

Schaalgrootte

Hoe kleiner het gebied dat afwatert op het onderzochte oppervlaktewater, des te duidelijker is het verband tussen geteelde gewassen, middelengebruik en de aard en omvang van de verontreinigingen die in het water worden aangetroffen. Tevens geldt dat hoe dichter bij de bron van de verontreiniging een bioassay wordt uitgevoerd, des te duidelijker het verband tussen verontreiniging en het optredende effect zal zijn. De gepresenteerde methodiek gaat echter uit van een verband tussen gewassen en gebruikte bestrijdingsmiddelen dat is gebaseerd op landelijke gemiddelden. Op lokale schaal kan hiervan sterk worden afgeweken, bijv. doordat agrariërs andere werkzame stoffen gebruiken dan algemeen gebruikelijk. Dit leidt er toe dat in de kleinste oppervlaktewateren (kavelsloten) wellicht andere stoffen voor zullen komen dan op basis van de landelijke verbruikscijfers wordt verwacht. Gezien de diversiteit van vooral nieuwe bestrijdingsmiddelen die de laatste jaren op de markt zijn gekomen is de kans dat de gebruikte stof niet in de aangewezen stofgroep valt aanzienlijk.

Dit probleem is te ondervangen door rekening te houden met de grootte van het afwateringsgebied. Hoe groter het gebied, des te meer zal het gebruik van bestrijdingsmiddelen in het gebied overeenkomen met het gemiddelde landelijke verbruik. Een andere mogelijkheid om te voorkomen dat op de verkeerde stofgroepen wordt geanalyseerd is om een analysepakket te kiezen dat zo breed mogelijk is. Verschillende commerciële laboratoria bieden dergelijke pakketten aan, waarbij naast de kwantitatieve analyse op een breed scala aan stoffen wordt "gescreend", wat meestal inhoudt dat er een minder nauwkeurige kwantitatieve analyse plaatsvindt. Dergelijke analysepakketten worden van tijd tot tijd bijgesteld, waarbij de middelen uit de screeningslijst die geregeld in de monsters worden aangetroffen in het kwantitatieve analysepakket worden opgenomen, en middelen die niet of nauwelijks worden aangetroffen naar de screeningslijst worden gezet of geheel worden afgevoerd.

In het geval men juist geïnteresseerd is in een specifieke toepassing, is het stappenplan als geheel minder toepasbaar. Men komt dan terecht in doelstelling 1b (zie stroomschema 1), waarbij slechts gedeelten van het stappenplan worden doorlopen en waarbij direct moet worden nagegaan of er effecten van de gebruikte middelen mogen worden verwacht.

Emissieroutes

Een andere beperking van de methode komt voort uit het gegeven dat de enige emissieroute die in de berekeningen is meegenomen het overwaaien van spuitnevel is. Andere routes die in praktijk wezenlijk bij kunnen dragen aan de totale belasting van oppervlaktewater, zoals oppervlakkige afspoeling en laterale uitspoeling (al dan niet via drainagebuizen) zijn verwaarloosd. Het gevolg hiervan is dat de kans op aanwezigheid in oppervlaktewater enigszins zal

zijn onderschat voor stoffen met lage sorptie aan organisch materiaal en hoge wateroplosbaarheid.

Middelenpakket

Daarnaast is de gehele analyse gebaseerd op verbruiksgegevens van bestrijdingsmiddelen uit 1995. Derhalve zijn stoffen die later dan 1995 zijn toegelaten niet in de berekeningen betrokken, en komen ook niet op de stoflijsten voor.

Grenzen voor uitvoering bioassays

De score waarbij wordt besloten om een bepaald type toets uit te voeren is gelegd bij een grens van 500 punten. Dit geldt eveneens voor de beslissing om tot chemische analyse van een stofgroep over te gaan. Een score van 1000 punten is equivalent aan de aanwezigheid van een stofconcentratie die 50% acuut effect veroorzaakt bij het gevoeligste toetsorganisme. De grens van 500 punten komt dan ook overeen met de aanwezigheid van 0,5 LC₅₀ of EC₅₀. Of de effecten die door deze concentratie worden veroorzaakt ook daadwerkelijk van de "achtergrondruis" kunnen worden onderscheiden hangt van diverse factoren af, zoals (variatie in) de natuurlijke omstandigheden, de ervaring van degene die de toets uitvoert etc. De 500-punten grens zal wellicht op basis van in de praktijk opgedane ervaring kunnen worden bijgesteld, waarbij het bijv. ook mogelijk is om de "kritische grens" voor de 2 bioassays verschillend te leggen.

Een ander probleem is dat de punten voor de kroostoets gebaseerd zijn op toxiciteitsproeven met algen. Uit de literatuur (o.a. Grossman *et al.*, 1992, STOWA, 1997b, Lahr *et al.*, 1998) blijkt echter dat de toxiciteit voor beide soorten lang niet altijd overeenkomt. Het kan dus zijn dat er op basis van deze data ten onrechte wordt aanbevolen de toets wel of niet uit te voeren.

Bioassay methode

Watervlooiensbioassay

Voor wat betreft de watervlooiENTOETS bestaat er naast de methode met de "omgekeerde glazen pot" ook een geavanceerdere opstelling: de Biokorf (Kamps-Mulder, 1999). De glazen potten worden door een aantal waterschappen toegepast voor het bepalen van de overleving en de reproductie na 1 week: de biokorf methode is door het RIZA ontwikkeld en vooral ook geschikt voor het volgen van populaties. Voor wat betreft de acute effecten op watervlooiens na één week worden er geen significante verschillen tussen de beide methoden gevonden (STOWA, 1997b). Echter in situaties waar er sprake was van een geringe verontreiniging zijn er wel aanwijzingen dat de blootstelling in de biokorf beter is (mond. med. R. Kamps-Mulder, RIZA). Om praktische redenen wordt het gebruik van de glazen potten aanbevolen.

Kroosbioassay

De kroostoets is nog veel minder ver ontwikkeld voor wat betreft de toepassing als veldtoets dan de watervlooiENTOETS. In het laboratorium, onder optimale groeiomstandigheden, is de toets gevoelig voor een aantal herbiciden, voor een aantal herbiciden ook voor gehalten zoals die in het veld verwacht mogen worden (zie STOWA, in voorbereiding). Onder suboptimale groeiomstandigheden, zoals in het veld op zullen treden blijkt de toets in het laboratorium echter minder gevoelig. Bij de uitgevoerde veldexperimenten was er nog een grote spreiding in groei. Een mogelijk probleem is, dat de groei een continue variabele is, die wordt beïnvloed door een scala aan factoren. Bij de watervlooiens gaat het in eerste instantie om het al dan niet overleven. Een watervlo die een weeklang suboptimale omstandigheden overleeft, telt volledig mee. In het geval van de kroostoets vindt hier al een groot effect op de effectiva-

riabele plaats. De uitdaging bij het ontwikkelen van een herbiciden toets is dan ook een toets te ontwikkelen die bijzonder gevoelig is voor herbiciden, maar relatief ongevoelig voor andere factoren. De voorlopige resultaten van de kroostoets laten nog veel vragen open. De gehanteerde methodiek kan echter ook op andere plantensoorten worden toegepast.

Interpretatie van effecten in de bioassays

In het geval dat er in een bioassay effecten zijn geconstateerd bestaat de eerste actie uit chemische analyse van het simultaan verzamelde oppervlaktewater. Hierbij zal de nadruk liggen op de stofgroepen die volgens de beschreven methodiek zijn geselecteerd. Voor een bespreking van enkele aspecten van de chemische analyse methoden zie bijlage 2.4.

Om een indruk te krijgen of de aangetroffen concentraties van bestrijdingsmiddelen verantwoordelijk zijn voor de opgetreden effecten kan een eenvoudige schatting worden gehanteerd. De methode baseert zich op beschikbaarheid van effectconcentraties (EC50 voor sterfte van watervlooien en voor de kroostoets) van de onderzochte bestrijdingsmiddelen.

Voor het organisme (watervlo of kroos) waarvoor effecten zijn geconstateerd wordt de concentratie van elk bestrijdingsmiddel omgerekend naar "Toxic Units" door de aangetroffen concentratie te delen door de effectconcentratie voor het betreffende organisme (bijv. de EC50 waarbij 50% effect optreedt):

$$TU_{\text{stof}} = \text{Conc}_{\text{stof}} / EC50_{\text{stof}}$$

De $EC50_{\text{stof}}$ en de aangetroffen concentratie ($\text{Conc}_{\text{stof}}$) dienen hierbij in dezelfde eenheden (bijv. $\mu\text{g l}^{-1}$) te worden uitgedrukt.

Nadat voor elk der aanwezige bestrijdingsmiddelen de concentratie op basis van "Toxic Units" is berekend kan de giftigheid van het oppervlaktewater voor het organisme worden geschat door de Toxic Units voor alle stoffen bij elkaar op te tellen. Indien de som van de concentraties van alle bestrijdingsmiddelen 1 TU benadert (of hoger is) is het zeer aannemelijk dat de geconstateerde effecten zijn te wijten aan de aanwezigheid van de betreffende bestrijdingsmiddelen. Bij 0,1 – 1 TU kan het effect van bestrijdingsmiddelen-stress niet uitgesloten worden, maar zal de storende invloed van andere stress-factoren relatief groter zijn.

Voor het uitvoeren van deze schatting zijn effectconcentraties (bijv. EC50) voor de watervlo en kroos van alle toegelaten bestrijdingsmiddelen nodig. Het verzamelen en rapporteren van deze gegevens valt echter buiten het kader van dit project. Wellicht dat deze gegevens in een later stadium kunnen worden verzameld om deze schatting mogelijk te maken.

5.2 Conclusies

Er is een richtlijn opgesteld voor de waterkwaliteitsbeheerders voor het toepassen van veld-bioassays voor het aantonen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater.

Het is gewenst om vooraf het doel waarvoor de bioassays worden ingezet duidelijk te omschrijven. Het al dan niet aantreffen van een effect in de bioassays kan dan altijd (mits andere oorzaken dan bestrijdingsmiddelen zijn uitgesloten) worden geïnterpreteerd in relatie tot het vooraf gestelde doel.

Op basis van gegevens van het grondgebruik kan a-priori worden aangegeven in hoeverre het zinvol is om een veldbioassay met watervlooiën of met kroos uit te voeren.

Op basis van dezelfde gegevens, aangevuld met gegevens uit het stappenplan, kan worden aangegeven welke groepen van middelen waarschijnlijk verantwoordelijk zijn voor een optreden effect.

De veldbioassay met watervlooiën is een bruikbaar instrument voor het traceren van de aanwezigheid van een aantal bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater. Het betreft met name bestrijdingsmiddelen uit de groep van de insecticiden.

Voor de kroostoets is op dit moment de gevoeligheid voor bestrijdingsmiddelen nog niet voldoende aangetoond om het op grote schaal toepassen van deze toets aan te bevelen.

Uit de praktijkervaringen met de watervlooiëntoets blijkt dat in het algemeen de praktische uitvoering met weinig problemen verloopt. Over het algemeen wordt op onbelaste punten een hoge overleving gevonden. De problemen die optreden zijn vooral het ontbreken van effecten op punten waar wel werd verwacht, of het optreden van effecten waar dit niet werd verwacht. Meestal is in deze gevallen de verwachting vooraf niet voldoende gespecificeerd, dat wil zeggen dat soms onvoldoende is gekeken of de middelen waar het om gaat in de betreffende periode we daadwerkelijk worden toegepast, of dat soms niet is nagegaan of er van het betreffende middel überhaupt effecten op watervlooiën mogen worden verwacht. Het doorlopen van het stappenplan kan hierbij dus een belangrijke verbetering vormen, zodat de toets effectiever kan worden ingezet, dan wel voorkomen kan worden dat toetsen onnodig worden uitgevoerd.

5.3 Aanbevelingen

Het is de verwachting dat bij het structureel doorlopen van het stappenplan het aantal uitgevoerde veldbioassays waarbij wordt geconcludeerd dat de toets niet werkt wegens onverwachte effecten sterk zal afnemen. Het is gewenst om de richtlijn in de praktijk enkele jaren toe te gaan passen en jaarlijks te evalueren en eventueel aan te passen. Daarom is tegelijkertijd met de richtlijn een opzet voor een evaluatie-formulier gemaakt (bijlage 2.3), waarbij de verschillende gebruikers bij het uitvoeren hun ervaringen weer kunnen geven. Hierdoor ontstaat de mogelijkheid om de richtlijn na gebruik bij meerdere waterkwaliteitsbeheerders te evalueren en zo nodig bij te stellen.

Op dit moment is als veldbioassay alleen de watervlooiëntoets beschikbaar. De kroostoets is nog in ontwikkeling, maar lijkt vooralsnog niet gevoelig genoeg voor het aantonen van de te verwachten gehalten aan bestrijdingsmiddelen. Mocht de kroostoets niet tot een bruikbare toets kunnen worden ontwikkeld zou een toets met andere hogere waterplanten kunnen worden overwogen. Deze moet dan wel eerst tot een praktijktoets worden uitgewerkt. Een toets voor fungiciden ontbreekt volledig. Aangezien fungiciden in Nederland voor wat betreft de kilogrammen actieve stof verreweg het meest worden gebruikt verdient het aanbeveling om de mogelijkheden voor een fungicidentoets te verkennen.

De gegevens afkomstig uit het stappenplan zouden moeten worden aangepast aan de actuele situatie. Gegevens over het gebruik van bestrijdingsmiddelen zijn inmiddels ook voor 1998 bij het CBS aanwezig.

Bijlage 1 Workshop "Het gebruik van bioassays in het waterkwaliteitsbeheer".

11 mei 2000; Apeldoorn

Programma

Ochtend:

- Opening door dagvoorzitter Rob van Gerve (Zuiveringsschap Rivierenland).
- 1. Een voorbeeld van een geslaagde toepassing van veldbioassays.
Spreker: Peter Florijn (Hoogheemraadschap van Delfland)
- 2. Overzicht beschikbare technieken.
Ria Kamps (RIZA)
- 3. Ontwikkelingen in beleid en normstelling.
Spreker: Kees van de Guchte (RIZA)
- 4. Praktijkervaringen.
Een richtlijn voor de uitvoering van veldbioassays in oppervlaktewater
Spreker: Frank de Jong (CML)
Integrale waterkwaliteitsbewaking ten behoeve van de drinkwaterbereiding.
Spreker: Corina Carpentier (KIWA)
Bioassays in het regionale waterbeheer: een vraag-gestuurde inzet.
Spreker: Jaap Postma (Aquasense)

Middag:

- Inleiding door dagvoorzitter: tegengestelde resultaten/ervaringen waterkwaliteitsbeheerders.

Discussie groepen:

1. Richtlijn voor het uitvoeren van veldbioassays. Relatie met de praktijk (wensen en aanmerkingen)
2. Hoe past de bioassay binnen TRIADE benadering? Wat te doen als de bioassay afwijkt van de chemische uitkomst?
3. Effluent bio-assays
4. Wat zijn de kosten t.o.v. de kwaliteit van de informatie die verkregen wordt uit bio-assays?

Plenaire slotsessie:

Dagvoorzitter presenteert de uitkomsten van de discussiegroepen en focust op: Wat doen we ermee, welke behoefte is er nog meer?

Bijlage 2.1 Gevolgde werkwijze voor het berekenen van de toxiciteitsscores van de verschillende gewassen

1. Hoogte van de belasting

Tijdens toepassing kunnen bestrijdingsmiddelen via een aantal routes in het oppervlaktewater terecht komen. Voor landbouwkundige toepassingen zijn vooral drift (het verwaaien van druppeltjes spuitvloeistof), uitspoeling (al dan niet via drains), afspoeling (bij hevige regenval kort na toepassing van het middel) en atmosferische depositie van verdampt bestrijdingsmiddel van belang. Voor acute belasting van het oppervlaktewater is vooral drift van belang, daar dit tijdens het gebruik van het middel direct tot relatief hoge concentraties van het bestrijdingsmiddel in het oppervlaktewater kan leiden. De andere routes kunnen vooral voor chronische belasting van het oppervlaktewater met relatief lage concentraties een rol spelen. Adequate methoden om de blootstelling ten gevolge van andere emissie-routes in oppervlaktewater te schatten zijn nog in ontwikkeling, en zijn daarom buiten beschouwing gelaten.

De mate waarin drift optreedt wordt in het Informatie Systeem Bestrijdingsmiddelen (ISBEST versie 3.0; Smidt et al., in voorbereiding), samen met informatie omtrent het verbruik van bestrijdingsmiddelen in de verschillende landbouwkundige gewassen, gebruikt om een belasting van het oppervlaktewater (in kg) uit te rekenen. De berekeningen zijn gebaseerd op landelijke verbruikscijfers van 1995 (CBS, 1997: Gewasbescherming in de land- en tuinbouw, 1995; LEI: Informatie uit het Bedrijven Informatie Net voor het jaar 1995; gegevens omtrent natte grondontsmetting zijn ontleend aan de Plantenziektkundige Dienst: Regulering Grond Ontsmetting 1995), en areaal gegevens van 1995 (CBS landbouw telling 1995). De driftpercentages die in ISBEST 3.0 worden gehanteerd zijn weergegeven in Tabel B2.1. Deze percentages zijn ontleend aan een literatuurstudie van het IMAG-DLO (van de Zande, 1997) en komen grotendeels overeen met de percentages zoals die in 1997 door het CTB werden gehanteerd (Van Vliet en Tas, 1996, zie tabel B2.1).

Omdat uitsluitend nationale verbruikscijfers van bestrijdingsmiddelen bekend zijn worden bij de berekeningen voor regionale/provinciale gebieden de nationale gemiddelden van het gebruik van werkzame stoffen in de verschillende gewassen gehanteerd. In combinatie met informatie omtrent de gewassen die in een gebied worden verbouwd geeft dit een schatting van het verbruik aan bestrijdingsmiddelen in dat gebied. Via drifttabellen en gegevens omtrent land/water-verhoudingen wordt het verbruik vervolgens omgerekend naar een te verwachten concentratie van het bestrijdingsmiddel in het oppervlaktewater.

Door gebruik te maken van ISBEST 3.0 kan op deze wijze voor de gewassen die in een regio worden geteeld een overzicht worden gegenereerd van de stoffen waarvan het waarschijnlijk is dat ze in het oppervlaktewater terecht komen.

Tabel B2.1 Driftpercentages gehanteerd in deze studie (ontleend aan ISBEST 3.0) en zoals gebruikt door het College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen (CTB).

Sector	Techniek	ISBEST ^a Drift (%)	CTB tot 31-12-99 ^b Drift (%)	CTB vanaf 1-1-2000 ^c Drift (%)
Volveldsteelt ^d	Landbouwspruit	5,4	1	5
Volveldsteelt	Landbouwspruit met luchtondersteuning	2,5	1	2,4
Fruitteelt	Dwarsstroomspruit voor 1 mei	17 ^e	17	17
Fruitteelt	Dwarsstroomspruit na 1 mei	6,8	7,0	7,0
Fruitteelt	Onkruidspruit	0		
Boortteelt	Landbouwspruit	6,3	5,4	
Boortteelt	Gedragen spruitboom	3,0	5,4	
Glastuinbouw	Spruiten, LVM, druppelaar, verstuiven	0,0 ^f	0,0	0,1
Algemeen	Granulaat	0,0	0,0	0,0
Algemeen	Strijken	0,0	0,0	0,0
Bollen	Dompelen	0,0	0,2	0,2
Akkerbouw	Vliegtuig	100	100	100

^a Van de Zande et al., 1997.

^b Van Vliet en Tas, 1996.

^c Vanaf 1-1-2000 is het in de volveldsteelten mogelijk om het gebruik van emissiereducerende maatregelen in de driftpercentages tot uiting te laten komen. Percentages zijn ontleend aan *Staatscourant* 153, 14 augustus 1998.

^d Volveldsteelten zijn de sectoren akkerbouw, groenten open grond en bloembollen.

^e Hogere emissie door het ontbreken van windhaag voor 1 mei.

^f Voor de berekeningen in dit rapport is voor kassen een "schijnbare drift" berekend door de emissie naar oppervlaktewater te schatten met behulp van een rekenmodel dat op dit moment in het kader van het GLAMI convenant wordt ontwikkeld op het Staring Centrum.

2. Verdwijnsnelheden

Als een bestrijdingsmiddel in het oppervlaktewater terecht is gekomen, zal de concentratie in het water via een aantal processen afnemen in de tijd. In dit rapport wordt uitgegaan van een stagnant systeem, dat wil zeggen dat er geen verdunning optreedt door aanvoer van schoon water (worst case benadering). De belangrijkste resterende verdwijnsnelheden zijn adsorptie aan het sediment, verdamping en biotische en abiotische afbraak in de waterkolom. De mate waarin deze processen optreden zijn behalve van de stof ook afhankelijk van de opbouw van het systeem (water/sediment verhouding, diepte van het systeem) en van omgevingsfactoren (temperatuur, windsnelheid). Om deze processen modelmatig te beschrijven wordt gebruik gemaakt van snelheidsconstanten die onder gestandaardiseerde condities zijn bepaald.

Er wordt aangenomen dat de snelheid van processen recht evenredig is met de concentratie van het bestrijdingsmiddel, met andere woorden dat de processen volgens 1^e orde reacties verlopen.

Afbaaksnelheden zijn ontleend aan "Pandora's Box" (Linders et al., 1994), waar nodig aangevuld met gegevens van van Rijn et al. (1995), Hornsby et al. (1996) en Tomlin (1998). Er is voor gekozen om afbaaksnelheden in sediment-slib systemen te gebruiken (overal afbaaksnelheid voor het systeem, dus niet de afbaaksnelheid voor water danwel sediment afzonderlijk) omdat deze het best overeenkomen met de te beschrijven situatie. Indien gegevens ontbreken afbaaksnelheden ontbreken is een "worst case" benadering gebruikt, waarbij wordt uit-

gegaan van géén merkbare afbraak (DT_{50} : 10^6 dagen). De reactiesnelheidsconstante voor afbraak is uit de DT_{50} berekend met behulp van:

$$k_{\text{afbraak}} = \ln(2) / DT_{50} \quad (1)$$

De snelheid van verdamping is beschreven met behulp van de volgende vergelijking, ontleend aan Adriaanse et al. (1997) en Beltman en Adriaanse (1999):

$$k_v = \{ 1/k_l + 1 / (k_g * K_H) \} * O_x / A \quad (2)$$

k_v : reactiesnelheidsconstante voor verdamping (d^{-1});

k_l : transportcoëfficiënt in de waterfase ($m d^{-1}$);

k_g : transportcoëfficiënt in de gasfase ($m d^{-1}$);

K_H : dimensieloze Henrycoëfficiënt;

O_x : breedte wateroppervlak (m);

A: dwarsdoorsnede stroomprofiel (m^2).

De transportcoëfficiënten k_l en k_g in de water- en gasfase variëren van $1.42 - 3.47 m d^{-1}$ in water en van $136 - 333 m d^{-1}$ in lucht resp. (Westein et al., 1998). Voor de berekeningen zijn constante waarden van 2 resp. $200 m d^{-1}$ gebruikt, evenals vaste waarden voor de breedte van het wateroppervlak (1 m) en voor de dwarsdoorsnede van het stroomprofiel ($0.21 m^2$, er wordt uitgegaan van een standaardslot met 30 cm diepte). De snelheid van verdamping wordt daarmee uitsluitend bepaald door de Henrycoëfficiënt van de verbinding, die is berekend als de verhouding van de dampdruk van de zuivere stof en de wateroplosbaarheid van de betreffende stof.

De totale verdwijnsnelheid wordt beschreven met:

$$k_{\text{verdwijn}} = k_{\text{afbraak}} + k_{\text{verdamp}} \quad (3)$$

Hieruit kan worden berekend welke fractie van de stof na een verblijftijd t nog in de waterfase aanwezig is:

$$\text{Verdwijnfactor} = C_{t=t} / C_{t=0} = \exp(-k_{\text{verdwijn}} * t) \quad (4)$$

Om de concentraties die zijn gevonden in standaard toxiciteitsexperimenten direct te kunnen vergelijken met de concentraties die na verblijftijd t nog in een slot aanwezig zijn, is er voor gekozen om voor herbiciden een verblijftijd van 72 uur (standaard duur van een algentoets) en voor insecticiden en fungiciden een verblijftijd van 48 uur (standaard duur van toetsen met vissen en kreeftachtigen) in de berekeningen te hanteren.

De zo berekende verdwijnfactoren variëren van $9,1 \cdot 10^{-7}$ voor het zeer vluchtige dichloorvos tot 0.9999 voor een relatief persistente verbinding als acefaat.

3. Giftigheid voor waterorganismen

De mate waarin een stof giftig is voor een organisme wordt door vele factoren bepaald, zoals de aard en eigenschappen van de stof, het soort organisme, omgevingsfactoren zoals temperatuur, voedingsstatus van het organisme etc. De acute giftigheid van bijv. bestrijdingsmiddelen voor de drie standaardsoorten vis, watervlo en alg is door het Centrum voor Landbouw en Milieu opgenomen als parameter in haar Milieumeetlat voor Bestrijdingsmiddelen (CLM, 1997). De giftigheid wordt weergegeven als index voor de belasting van het waterleven, ook wel aangeduid als de milieubelastingspunten (MBP) voor waterleven. Waar in dit rapport sprake is van MBP's worden steeds deze milieubelastingspunten voor waterleven bedoeld.

De MBP's die worden berekend voor een concentratie van een bestrijdingsmiddel in oppervlaktewater geven een indicatie voor de effecten op het waterleven die te verwachten zijn ten gevolge van blootstelling aan de betreffende stof. Hierbij dienen 2 zaken te worden bedacht:

1. MBP's zijn een maat voor de acute toxiciteit, en geven slechts een indruk van de effecten die op korte termijn ontstaan ten gevolge van blootstelling aan het betreffende bestrijdingsmiddel.
2. MBP's zijn vastgesteld op basis van toxiciteitsexperimenten met 3 standaardsoorten; andere soorten waterorganismen kunnen qua gevoeligheid voor een bestrijdingsmiddel sterk afwijken van de standaardsoorten en de mate waarin dit optreedt kan per stof verschillen. 1000 MBP geeft aan dat de concentratie van de stof in water gelijk is aan de EC_{50} voor de soort die (van de 3 standaardsoorten) het meest gevoelig is voor deze verbinding.

MBP's geven derhalve slechts een globale indicatie van acute effecten die zullen optreden bij blootstelling van waterorganismen aan bestrijdingsmiddelen.

Het grote voordeel van MBP's boven de voor normstelling veel gebruikte MTR (Maximaal Toelaatbaar Risico, equivalent aan de HC_5 berekend volgens de methode van Aldenberg-Slob, 1993) is dat MBP's voor vrijwel alle toegelaten bestrijdingsmiddelen bekend zijn, terwijl dit voor de MTR zeker niet geldt. Bovendien geven MBP's een indruk van acute effecten zoals die in de voorgestelde bioassays (watervlo-toets en kroostoets) worden gebruikt, terwijl de MTR is gebaseerd op chronische toxiciteitsgegevens bij langdurige blootstelling.

Om deze redenen is voor het schatten van het optreden van effecten in de watervlo- en kroostoets gebruik gemaakt van de methodiek zoals die door het CLM is gehanteerd, waarbij de mogelijke effecten op waterleven worden weergegeven in MBP's.

4. Aannamen bij de berekeningen

Bij het uitvoeren van de berekeningen bleek het noodzakelijk om een aantal aannames te maken. Deze aannamen kunnen van invloed zijn op de uitkomsten van de berekeningen, en worden daarom hier gespecificeerd:

- i. Voor een aantal verbindingen is de afbraaksnelheid in water/sedimentsystemen onbekend. In dit geval werd een DT_{50} van 10^6 dagen gehanteerd (geen afbraak).
- ii. Voor een aantal verbindingen is de dampdruk onbekend of in de database op 0 gesteld. In dit geval werd een dampdruk van 10^{-6} milliPascal gebruikt, zodat verdamping vrijwel uitgesloten wordt.

- iii. Er is geen onderscheid gemaakt tussen fenvaleraat en esfenvaleraat (samengevoegd als esfenvaleraat); er is eveneens geen onderscheid gemaakt tussen glyfosaat en glyfosaat-trimesium (samengevoegd als glyfosaat).
- iv. Voor de berekening van de emissie van groenten en bloemen/planten onder glas naar oppervlaktewater is gebruik gemaakt van het GLAMI glastuinbouw rekenschema dat op dit moment wordt ontwikkeld op het Staring Centrum (Deneer en Leistra, in voorbereiding). Dit model berekent de emissie vanuit kassen naar oppervlaktewater. Deze emissie (in kg) is in de berekeningen gebruikt op vergelijkbare wijze als de emissie via spuitdrift in de open teelten.
- v. Voor gewassen in de glastuinbouw is als benadering gebruikt dat alle glasgroenten voor 100% op substraat worden geteeld, en dat alle glasbloemen en planten voor 100% in grond worden geteeld.

Bijlage 2.2a Overzichtslijsten gewassen voorjaar (periode week 9 t/m week 36); bij sommige gewassen is geen dominante stofgroep aangegeven omdat het gebruik binnen het gewas voor elk der groepen vrij laag is; v.g. = vollegrondsteelt, o.g. = teelt onder glas.

Gewas	Scores			Stofgroep
	Insect.	Herb.	Fungic.	
Aardappel, consumptie	869	1915	3594	Organotin
Aardappel, fabriek	128	3212	4056	Organotin
Aardbei	5947	0	603	Organofosfor
Andijvie	12882	0	2031	Organofosfor
Anjers, o.g.	14807	0	11498	Pyrethroiden, dithiocarbamaten
Appels, aanplant vorig jaar	17671	0	0	Organofosfor
Appels, oud	2791	0	2799	Organofosfor
Asperges	48	1075	20	Ureumherbiciden
Bewaarkool	14275	0	0	Organofosfor, pyrethroiden
Bloemkool	14241	0	0	Organofosfor, pyrethroiden
Bonen, bruine	0	4632	4	Ureumherbiciden
Chrysant, o.g.	173807	0	0	Organofosfor
Erwten, groen	567	318	0	Organofosfor
Freesia, o.g.	71062	0	0	Organofosfor
Gladiolen, bollen	2284	0	620	Pyrethroiden
Grasland, blijvend	23	2	0	-
Grasland, tijdelijk	12	3	0	-
Graszaad	111	121	0	-
Herfstkool	14340	0	0	Organofosfor, pyrethroiden
Hyacinth, bollen	28899	0	497	Pyrethroiden
Iris, bollen	13519	0	1057	Pyrethroiden
Komkommer, o.g.	27280	0	2790	Pyrethroiden, organofosfor
Laan en perk	6478	0	0	Organofosfor
Lelies, bollen	69055	0	1636	Pyrethroiden
Lelies, o.g.	67576	0	0	Organofosfor
Narcis, bollen	7176	0	609	Pyrethroiden
Paprika, o.g.	3462	0	186	Abamectine, carbamaten
Peren, aanplant vorig jaar	17462	0	0	Organofosfor
Peren, oud	1889	0	15312	Dithiocarbamaten
Plantsoen, bos- en haag	8605	0	0	Organofosfor
Potplanten blad, o.g.	272308	0	0	Organofosfor
Potplanten bloei, o.g.	14640	129455	3522	Lenacil, uracilverbindingen
Prei	7499	0	0	Organofosfor
Rozen, o.g.	55897	0	0	Pyrethroiden
Rozestruik, v.g.	4726	324	0	Organofosfor
Schorseneren	0	69	3512	Organofosfor
Sierconiferen, v.g.	11557	0	0	Organofosfor
Sla	13026	0	2022	Organofosfor
Snijmais	251	552	0	Organochloor, triazines
Spinazie	13124	0	2018	Organofosfor
Spruitkool	17721	0	0	Organofosfor
Stambonen	87	660	0	Ureumherbiciden
Suikerbiet	328	120	0	Organochloor
Tomaten, o.g.	77032	0	52902	Organofosfor
Tuinbonen	44	662	1	Ureumherbiciden
Tulpen, bollen	11815	0	797	Pyrethroiden
Vaste planten, v.g.	2079	0	369	Cyhexatin, pyrethroiden
Vruchtbomen, kweek	16499	0	0	Organofosfor
Waspeen	23375	324	0	Organofosfor
Winterpeen	42909	0	0	Organofosfor
Wintertarwe	424	225	0	Pyrethroiden, ureumherbiciden
Witlof	1928	63	0	Organofosfor
Zaaiuien	2024	1762	453	Organofosfor
Zilveruien	2036	1761	453	Organofosfor
Zomergerst	54	68	0	-
Zomertarwe	35	68	0	-

Bijlage 2.2b Overzichtslijsten gewassen najaar (periode week 37 t/m week 8); bij sommige gewassen is geen dominante stofgroep aangegeven omdat het gebruik binnen het gewas voor elk der groepen vrij laag is; o.g. = teelt onder glas.

Gewas	Scores			Stofgroep
	Insect.	Herb.	Fungic.	
Aardappel, fabriek	0	47	0	-
Aardbei	0	7	4059	Organofosfor
Anjers, o.g.	14807	0	11498	Pyrethroiden, dithiocarbamaten
Appels, aanplant vorig jaar	0	0	109	-
Appels, oud	0	0	200	Captan
Chrysant, o.g.	173807	0	0	Organofosfor
Freesia, o.g.	71062	0	0	Organofosfor
Gladiolen, bollen	0	0	38	-
Grasland, blijvend	65	0	0	-
Grasland, tijdelijk	65	1	0	-
Graszaad	28	48	0	-
Hyacinth, bollen	0	22	4	-
Iris, bollen	0	13	3	-
Komkommer, o.g.	27280	0	2790	Pyrethroiden, organofosfor
Lelies, bollen	3434	0	667	Pyrethroiden
Lelies, o.g.	67576	0	0	Organofosfor
Narcis, bollen	0	50	0	-
Paprika, o.g.	3462	0	186	Abamectine, carbamaten
Peren, aanplant vorig jaar	0	0	94	-
Peren, oud	0	0	1680	Dithiocarbamaten
Potplanten blad, o.g.	272308	0	0	Organofosfor
Potplanten bloei, o.g.	14640	129455	3522	Lenacil, uracilverbindingen
Rogge	0	12	0	-
Rozen, o.g.	55897	0	0	Pyrethroiden
Spruitkool	0	0	396	Organofosfor
Suikerbiet	0	0	12	-
Tomaten, o.g.	77032	0	52902	Organofosfor
Triticale	0	12	0	-
Tulp, bollen	0	63	3	-
Voederbiet	0	0	13	-
Wintergerst	0	12	0	-
Wintertarwe	0	12	0	-
Winterpeen	0	0	2	-
Witlof	0	0	5	-

Bijlage 2.3 Evaluatieformulier bioassays

Het onderstaande betreft een aanzet tot een evaluatieformulier. Een en ander moet door de instantie die de evaluatie uit gaat voeren verder worden uitgewerkt. Een formulier zou de volgende aspecten moeten bevatten.

Gegevens invuller

Naam Waterschap:

Naam invuller:

Adres:

Tel:

Algemene achtergrond en doelstelling

Locatie:

Probleemstelling:

Doel van het onderzoek:

Protocol gevolgd: ja/nee Zo ja, welk protocol:

Stappenplan gevolgd: ja/nee

Technische gegevens

Type bioassay: water/waterbodem

veld/lab

Toetsorganisme:

Afkomstig van:

Datum en duur van de toets:

Aantal monsterpunten:

Aantal herhalingen in de tijd:

Referentiepunten meegenomen: ja/nee zo ja: hoeveel:

Chemische metingen bestrijdingsmiddelen uitgevoerd: ja/nee zo ja hoeveel

Fysisch chemische bepalingen uitgevoerd: ja/nee

Kosten (schatting):

Resultaten

Effecten in de referentie:

gemiddelde groei:

gemiddelde overleving:

anders:

Effecten in de blootgestelde bioassays:

gemiddelde groei:

gemiddelde overleving:

anders:

Interpretatie

Resultaten in relatie tot dit doel:

Wat is de conclusie uit het onderzoek:

Ruimte voor opmerkingen over: uitvoering, onverwachte resultaten etc.

Bijlage 2.4 Enkele aspecten betreffende chemische metingen

Tijdstip en aard van bemonstering oppervlaktewater

Het gebruik van bestrijdingsmiddelen is niet continue in de tijd maar gebeurt op gezette tijdstippen. Dit heeft tot gevolg dat de concentraties van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater sterk kunnen fluctueren. De effecten die in de bioassays optreden zijn vaak het gevolg van kortdurende hoge belastingen met bestrijdingsmiddelen. Om een verband te kunnen leggen tussen optredende effecten en de concentraties van bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater zullen de gemeten concentraties betrekking moeten hebben op de periode waarin ook het bioassay is uitgevoerd. Bemonstering van oppervlaktewater nadat in een bioassay effecten zijn geconstateerd zal veelal leiden tot slechte resultaten, omdat de concentraties van bestrijdingsmiddelen op dat moment al duidelijk kunnen afwijken van de concentraties die de effecten hebben veroorzaakt. Om een causaal verband tussen gemeten concentraties en de opgetreden effecten aan te kunnen geven is simultaan uitvoeren van de bemonstering en het bioassay noodzakelijk.

Om vergelijkbare redenen verdient het aanbeveling om waar mogelijk gebruik te maken van continue bemonstering van oppervlaktewater. Het tijdsintegrerende karakter hiervan geeft een goed beeld van de gemiddelde belasting die tijdens de blootstellingsperiode van het bioassay is opgetreden. Discontinue bemonstering geeft slechts een momentaan beeld van de situatie op het moment van bemonsteren. Indien de bemonstering uitsluitend is gericht op het bepalen van een gemiddelde blootstellingsconcentratie (en niet wordt gebruikt voor bijv. het berekenen van vrachten van bestrijdingsmiddelen) is het niet nodig om debietproportioneel te monstren maar kan worden volstaan met een tijdsproportionele bemonstering.

Massaspectrometrische detectie

Er zijn in Nederland verschillende laboratoria die routinematig pakketten van bestrijdingsmiddelen kunnen analyseren. Analyse van een aantal stofpakketten (bijv. organische fosforverbindingen, organochloor verbindingen, triazines) blijkt door vrijwel alle laboratoria te worden aangeboden tegen vergelijkbare prijzen.

Een deel van de laboratoria gebruikt hiervoor chromatografische technieken waarbij detectie plaatsvindt met detectoren die selectief gevoelig zijn voor de te analyseren groep van verbindingen (N/P/Cl-detectie). Identificatie van stoffen vindt plaats op basis van retentietijden van de verbindingen in het chromatografische systeem. Hierbij bestaat echter een niet geringe kans op valse positieven, waarbij verbindingen worden gerapporteerd die in werkelijkheid niet aanwezig zijn. Dit probleem is in het recente verleden met name bij de analyse van organofosfor- en organochloor-bestrijdingsmiddelen opgetreden. Het verdient dan ook sterk de voorkeur om gebruik te maken van detectie waarbij identificatie van bestrijdingsmiddelen door middel van massaspectrometrische detectie plaatsvindt. Door het grote aantal verbindingen dat tegenwoordig in de gewasbescherming wordt gebruikt wordt het steeds lastiger om een dekkend beeld te krijgen van de aanwezigheid van stoffen indien men de analyses beperkt tot enkele groepen van chemisch nauw verwante verbindingen, zoals gebeurt bij chromatografische technieken met N/P/Cl-detectie. Massa-spectrometrische detectie wordt steeds meer toegepast in milieu-laboratoria, omdat zij het mogelijk maakt om een breed scala van verbindingen in één analyse te bestrijken, terwijl het risico op vals positieve identificatie sterk gereduceerd wordt. Een nadeel van massa-spectrometrische detectie is de vaak iets minder goede gevoeligheid. Toch verdient het sterk aanbeveling om chemische analyses van routinematig verzamelde monsters van oppervlaktewater te (laten) verrichten met behulp van massaspectrometrische detectie. Indien dit niet mogelijk is, of om financiële redenen niet haalbaar of

niet gewenst, verdient het op zijn minst aanbeveling om de identiteit van stoffen die door middel van conventionele technieken zijn aangetoond steekproefsgewijs door middel van massaspectrometrie te (laten) bevestigen.

Bijlage 3.1 Richtlijn voor het uitvoeren van de veldbioassay met watervlooien.

Testsoort

Watervlo *Daphnia magna*. Gebruik watervlooien van 10 dagen oud uit gecertificeerde laboratoria (à f 4,50, prijspeil 1999). Het zelf kweken van watervlooien is ook mogelijk (zie NEN richtlijn NPR 6503); in de praktijk blijkt dat zich problemen voor kunnen doen en er dient derhalve rekening te worden gehouden met een ruime aanloopperiode. Alvorens een kweek op te zetten is het wenselijk om contact op te nemen met instantie die reeds langdurige ervaring heeft met het kweken van watervlooien (bijv. RIVM, RIZA, TNO).

Uitvoering

De opstellingen bestaan uit glazen potten (700 ml) met in het deksel een gat waarin 2 lagen gaas zijn aangebracht (binnenste gaas roestvrij staal maaswijdte 0,25 mm, buitenste 1 mm) (zie afbeelding). De pot wordt in het veld tot 2/3 door het deksel gevuld met water uit de te onderzoeken watergang.

De watervlooien moeten worden vervoerd in voldoende ruime potten (min. 1 liter), met maximaal ca. 200 watervlooien per pot. Extreme schommelingen in omstandigheden (met name te hoge temperaturen) moeten worden vermeden. De watervlooien worden in het veld in de bioassay potten gedaan met behulp van een glazen of doorzichtige kunststof pipet met een binnen diameter van ca. 5 mm. De watervlooien kunnen goed in de pipet worden geteld. Het tellen is echter ook mogelijk in de monsterpotten.

De bioassays worden ondersteboven in de sloot geplaatst, vlak onder het wateroppervlak, met een steen als gewicht, waarbij een luchtbel in de pot ervoor zorgt dat deze blijft drijven en dat het zuurstofgehalte niet te laag wordt. Per monsterpunt worden 2 potten met 10 vlooien van 10 dagen oud ingezet. Voorkom zoveel mogelijk verstoring of vernieling door de potten uit het zicht en niet in doorgaande vaarroute op te stellen. Informeer of er in de betreffende periode geschoond wordt of andere werkzaamheden plaatsvinden. Als dit het geval is, moeten de opstellingen duidelijk worden gemarkeerd en contact worden opgenomen met de betreffende instantie.

Selectie monsterpunten

De keuze van de monsterpunten hangt af van de vraagstelling; onderstaand wordt de ideale situatie beschreven waarin men een belaste polder wil en kan vergelijken met een referentiegebied. Als ruimtelijke eenheid wordt een waterhuishoudkundige eenheid gekozen (i.h.a. een polder). Per polder worden 10 monsterpunten in de hoofdwatervgangen gekozen (inclusief het inlaatpunt en het uitlaatpunt). Daarnaast worden 5 monsterpunten in de kavelsloten genomen. Voor de concrete keuze van de punten is het van groot belang dat de waterbewegingen in onderzoeksgebied en -periode bekend zijn. Aan de hand van een kaart en de waterbewegingen kan een gradiënt van blootstelling worden verondersteld vanaf het inlaatpunt, via de kavelsloten, naar de verzamelwatergangen, naar de hoofdwatervgangen en naar het uitlaatpunt. In deze wateren worden de monsterpunten vervolgens gekozen. Praktische zaken als bereikbaarheid van de monsterpunten, verstoringsgevoeligheid en medewerking van de aanliggende bedrijven zijn van groot belang en bepalen mede de keuze van de monsterpunten.

Als referentiegebied wordt een gebied gekozen wat zoveel mogelijk gelijk is aan het onderzoeksgebied voor wat betreft grondsoort en ligging, maar waarin geen bestrijdingsmiddelen worden gebruikt. In dit gebied worden 5 punten gekozen, verdeeld over de bovengenoemde watertypen (hoofdwatergangen, kavelsloten). Als referentiegebied kan bijv. worden gedacht aan een park, een graslandpolder, watergangen in meer bewoonde gebieden etc. Aan de hand van kaarten van de waterstromingen moet worden vastgesteld dat geen hydrologische blootstelling met bestrijdingsmiddelen plaatsvindt.

Het aantal van 20 monsterpunten is in de praktijk door twee personen in 1 dag in te zetten (of door 1 persoon in 2 dagen), uiteraard afhankelijk van de tijd die het kost om de monsterpunten te bereiken. Bij andere vraagstellingen, of het ontbreken van een vergelijkbaar referentie gebied, moeten de monsterpunten steeds zo worden gekozen, dat het al dan niet aantreffen van een effect ook geïnterpreteerd kan worden en bijdraagt aan het beantwoorden van de vraagstelling.

Aanvullende informatie

Voor wat betreft de kavelsloten is het voor de interpretatie achteraf noodzakelijk dat bekend is of en welke bespuitingen hebben plaatsgevonden in of vlak voorafgaand aan de proefperiode.

Verder moeten voor alle monsterpunten de volgende factoren worden gemeten: temperatuur, waterdiepte, slootbreedte, zuurstof, pH, NO_2^- , NH_4^+ , NH_3 , Cl^- , Geleidbaarheid, Saliniteit, bedekking met drijvende waterplanten, doorzicht en overige opvallende kenmerken van de sloot.

Metingen

Eén week na het inzetten worden de potten bemonsterd en wordt genoteerd hoeveel van de 10 moederdieren er nog in leven zijn. Bij activiteit wordt onderscheid gemaakt tussen normaal bewegende exemplaren (actief) en dieren die afwijkend gedrag vertonen (inactief of "tollend"). Het aantal jongen wordt geschat in 10-tallen. Het noteren kan in het veld geschieden; wanneer het water helder genoeg is kunnen de bovenbeschreven parameters in de glazen pot worden waargenomen; eventueel kan de inhoud in een witte plastic bak worden geleegd en kunnen hierin de vlooiën worden geteld.

Bewerking en weergave resultaten

In principe wordt de gemiddelde waarde van de twee potten genomen (zie ook onder geldigheid). Alleen als de overleving in een van beide potten duidelijk door andere oorzaken dan bestrijdingsmiddelen is beïnvloed (bijv. omvallen, gat in deksel) wordt deze niet meegenomen. De resultaten (% sterfte en afwijkend, % overleving; aantal jongen) worden in een tabel gezet.

Verslaglegging

Van de toets wordt een beknopt verslag gemaakt. Hierin worden in ieder geval de monsterpunten weergegeven, tijdstip en duur en de resultaten, ook van de fysisch chemische bepalingen.

Geldigheid

Monsterpunten waar duidelijk verstoring heeft plaatsgevonden worden niet meegenomen. Ook monsterpunten waar fysisch chemische parameters niet binnen de in het stappenplan genoemde grenzen liggen worden niet meegenomen.

Kosten

De kosten hebben betrekking op één bioassay experiment zoals voorgeschreven, dat wil zeggen bij 20 monsterpunten.

Eenmalige kosten

Materialen

Bioassays: f 1.000,-

Tijdsbesteding:

Voorbereiding en selecteren monsterpunten: 5 dagen

Uitwerking en verslaglegging: 2 dagen

Totaal 7 dagen

Salariskosten (f 1500,-/dag) f 10.500,-

Eenmalige kosten totaal: f 11.500,-

Kosten van herhaalde experimenten:

Watervlooiën: f 1.800,-

Uitvoeren bioassays: 4 dagen

Salariskosten (f 1500,-/dag) f 6.000,-

Kosten herhaalde experimenten totaal: f 7.800,-

Kosten voor metingen van bestrijdingsmiddelen zijn hier niet bij betrokken.

Bijlage 3.2. Richtlijn voor het uitvoeren van een de veldbioassay met kroos.

Testsoort

Klein kroos *Lemna minor*. Gebruik de krooslijn van het Interfacultair Reactor Instituut te Delft, thans ook op het CML aanwezig. Kroos is eenvoudig in het lab zelf te kweken (zie bijlage 3.2.1).

Uitvoering

De bioassay opstelling bestaat uit twee zacht doorzichtig kunststof bakjes zonder bodem (\varnothing 11 cm, hoogte 7 cm). De twee bakjes worden in elkaar gezet met ertussen kunststof gaas met een maaswijdte van 1 mm. In de bijbehorende deksels wordt een gat gemaakt; ook hieronder wordt gaas geklemd. In een plank watervast multiplex (dikte 9 mm, 35 x 35 cm) worden twee gaten gemaakt (diameter ca. 9,5 cm). De bakjes worden in deze gaten. In de planken wordt ook een gat gemaakt, waardoor een stok kan worden gestoken, die in de slootbodembodem komt en de opstelling op zijn plaats houdt; bij te diepe watergangen kan de opstelling ook via een draad aan de kant worden verankerd.

Per monsterpunt wordt één opstelling met 2 bakjes ingezet. De bakjes worden bij aanvang van de proef gevuld met 20 kroosblaadjes (10 kroosplantjes bestaande uit 2 blaadjes). Dit vullen gebeurt in het laboratorium met een spateltje of een entnaald. Pas op dat de wortels niet beschadigd raken. De bakjes worden vervolgens met deksel in een bak met een laag water gezet en worden zo vervoerd; vermijdt bij het vervoer extreme temperaturen. Bij aanvang wordt het gewicht bepaald door in het lab van 5 x 20 kroosblaadjes het drooggewicht te bepalen op de dag van inzetten. Na 14 dagen worden de bakjes opgehaald en worden op het lab het aantal blaadjes en het drooggewicht bepaald. De opgehaalde bakjes worden in een bak water vervoerd; het is erg belangrijk dat de kroosplantjes vochtig blijven, aangezien ze snel indrogen, wat met name het tellen zeer bemoeilijkt. NB. let er bij het inzetten op dat de monsterpunten niet beschadigd worden.

Selectie monsterpunten

Als ruimtelijke eenheid wordt een waterhuishoudkundige eenheid gekozen (i.h.a. een polder). Per polder worden 10 monsterpunten in de hoofdwatertgangen gekozen (inclusief het inlaatpunt en het uitlaatpunt). Daarnaast worden 5 monsterpunten in de kavelsloten gekozen. Aan de hand van een kaart en de waterbewegingen kan met behulp van bij de waterschappen aanwezige kennis een gradiënt van blootstelling worden verondersteld vanaf het inlaatpunt, via de kavelsloten, naar de hoofdwatertgangen en naar het uitlaatpunt. In deze wateren worden de monsterpunten vervolgens gekozen. Praktische zaken als bereikbaarheid van de monsterpunten, verstoringsevoeligheid en medewerking van de aanliggende bedrijven zijn van groot belang en bepalen mede de keuze van de monsterpunten.

Als referentiegebied wordt een gebied gekozen wat zoveel mogelijk gelijk is aan het onderzoeksgebied, maar waarin geen bestrijdingsmiddelen worden gebruikt. In dit gebied worden 5 punten gekozen, bij voorkeur ook verdeeld over de bovengenoemde watertypen. Als referentiegebied kan bijv. worden gedacht aan een park, een graslandgebied, watertgangen in meer bewoonde gebieden etc.

Aanvullende informatie

Voor wat betreft de kavelsloten is het voor de interpretatie achteraf noodzakelijk dat bekend is of en welke bespuitingen hebben plaatsgevonden in of vlak voorafgaand aan de proefperiode.

Verder moeten voor alle monsterpunten de volgende factoren worden gemeten: temperatuur, waterdiepte, slootbreedte, zuurstof, pH, N, P, K, Cl⁻, Geleidbaarheid, Saliniteit, bedekking met drijvende waterplanten, doorzicht en overige opvallende kenmerken van de sloot.

Metingen

Na 2 weken worden de bakjes opgehaald; het aantal blaadjes wordt geteld en het drooggewicht wordt per bakje bepaald na 8 uur drogen bij 80°C.

Bewerking en weergave resultaten

Uit het verschil tussen het eind- en het begingewicht kan vervolgens de groeisnelheid worden bepaald m.b.v. de volgende formule:

$$g = \frac{\ln dg_t - \ln dg_0}{t}$$
 waarbij dg_t het drooggewicht (of het aantal blaadjes) aan het einde van de proef is, en dg_0 die aan het begin. t = de tijd gemeten in aantal dagen en $\ln(g)$ is de groeisnelheid.

Een effect op een belast monsterpunt kan vervolgens worden uitgedrukt als % groeiremming vergeleken met de groei in de onbelaste monsterpunten. Middels de formule:

$$\text{groeiremming (\%)} = 100(g_R - g_B)/g_R$$

Waarin g_R = de gemiddelde groeisnelheid in de referentie

g_B = de groeisnelheid in de blootgestelde opstelling

Zet de uitkomsten in een tabel gezet.

Verslaglegging

Van de toets wordt een beknopt verslag gemaakt. Hierin worden in ieder geval de monsterpunten weergegeven, tijdstip en duur en de resultaten, ook van de fysisch chemische bepalingen.

Geldigheid

Monsterpunten waar duidelijk verstoring heeft plaatsgevonden worden niet meegenomen. De monsterpunten mogen niet beschaduwd zijn. Ook monsterpunten waar fysisch chemische parameters niet binnen de in het stappenplan genoemde grenzen liggen worden niet meegenomen.

Kosten

De kosten hebben betrekking op één bioassay experiment zoals voorgeschreven, dat wil zeggen bij 20 monsterpunten.

Eenmalige kosten:

Materiaal:		
Kweek:	f 500,-	
Bioassays:	f 1000,-	
Totaal		f 1.500,-
Tijdsbesteding:		
Selecteren monsterpunten:	5 dagen	
Uitwerken en verslaglegging:	2 dagen	
Tijdsbesteding totaal:	7 dagen	
Salariskosten (f 1500,-/dag)		f 10.500,-
Eenmalige kosten totaal:		f 12.000,-

Kosten voor herhaalde experimenten

Tijdsbesteding:		
Kweek:	1 dag	
Uitvoeren bioassays:	5 dagen	
Totaal	6 dagen	
Salariskosten (f 1500,-/dag)		f 9.000,-
Kosten herhaalde experimenten totaal:		f 9.000,-

Kosten voor metingen van bestrijdingsmiddelen zijn hier niet bij betrokken.

Bijlage 3.2.1 Kweekmethode klein kroos *Lemna minor*

De kweek vindt plaats in glazen bakken van 50x15x20 cm (lxbxh) en worden gevuld met 5 liter leidingwater. Om het risico te spreiden worden drie bakken ingezet. Als groeimedium wordt gebruik gemaakt van een commercieel verkrijgbare voeding (Blusana voeding voor hydrocultuur, verkrijgbaar in tuincentra), in de vorm van korrels. De dosering hiervan bedraagt 0,5 g/l. De kweekbakken worden doorlucht.

Bij de kweek wordt gebruik gemaakt van verlichting d.m.v. twee tl-buizen van 35 watt elk op 70 cm boven de bakken, met een licht-donker regime van 16 uur licht en 8 uur donker. De temperatuur van de kweekruimte is ca. 22 °C.

De kweekbakken worden elke drie weken schoongemaakt en het medium ververs.

Bijlage 4 Karakterisering voorbeeldgebied (Bommelerwaard)

Bron: Merkelbach et al. (1999).

Algemeen

De Bommelerwaard is een gebied dat zich ruwweg uitstrekt van de dode Maas-Waal verbinding oostelijk van Kerkdriel en Rossum (in het oosten) en het Heusdens Kanaal overgaand in de Afgedamde Maas in het westen. In het noorden wordt het gebied begrensd door de Waal en in het zuiden door de Maas. Na de gemeentelijke herindeling van januari 1999 bestaat de Bommelerwaard uit een tweetal gemeenten, te weten Maasdriel (Ammerzoden, Hedel, Maasdriel, Rossum en Heerewaarden) en Zaltbommel (Brakel, Kerkwijk, Zaltbommel). Het gebied, dat voornamelijk een agrarische bestemming heeft, kent een oppervlakte van 15700 hectare en een inwoneraantal van ± 50000 .

Het water in de Bommelerwaard bestaat hoofdzakelijk uit regenwater, kwelwater en ingelaten Maaswater. Dit water wordt via een uitgebreid watergangenstelsel getransporteerd. De toaallengte van het watergangenstelsel wordt geschat op 1.370 km, exclusief de droge sloten en greppels (TOP-10 vector, © Topografische Dienst). De jaargemiddelde verblijftijd van het water in de Bommelerwaard wordt geschat op enkele dagen (DHV, 1995).

De herkomst van het water kan sterk variëren gedurende de seizoenen. Zo zal er in de winterperiode voornamelijk sprake zijn van regenwater, terwijl er in de zomerperiode relatief meer water als gevolg van kwel via de noordzijde vanuit de Waal binnenstroomt. Actief peilbeheer vindt plaats door de gemalen aan de Maas (Stuvers en Hedel) en door de aan de westzijde gelegen gemalen van Dam van Brakel, de Jongh en Baanbreker. Het zesde gemaal in de Bommelerwaard, De Rietschoof, kan i.t.t. de andere gemalen alleen water uitmalen en niet inlaten.

Door het Duinwaterbedrijf Zuid-Holland wordt jaarlijks zo'n 70 miljoen m³ water uit de Afgedamde Maas ingenomen voor de productie van drinkwater. Een evenzo groot deel wordt vanuit de Afgedamde Maas bij de Wilhelmina sluizen van de Maaszijde naar de Waalszijde verpompt ter compensatie van lek-, schut- en kwelverliezen. In totaal wordt dus zo'n 140 miljoen m³ onttrokken aan de Afgedamde Maas. Gemiddeld éénderde is, zoals hierboven is berekend, afkomstig uit de Bommelerwaard. Het grootste deel wordt dus aangevuld vanuit de Maas. Dit laatste zal met name in de zomerperiode het geval zijn wanneer er relatief weinig water de Bommelerwaard wordt uitgeslagen.

Grondgebruik

De Bommelerwaard heeft voornamelijk een agrarische bestemming. Van de bijna 16000 hectare die het gebied groot is wordt ongeveer 9000 ha in de vorm van cultuurgrond in productie genomen door de landbouw (CBS, 1996). In onderstaande tabellen is het agrarisch grondgebruik gegeven over 1995, verdeeld over de verschillende sectoren en gewas(groepen).

Met een areaal van 7455 hectare heeft de rundveehouderij ruim 80% van het landbouwareaal in de Bommelerwaard in gebruik. Het grasland besloeg in 1995 6469 ha; maïs werd in dat jaar geteeld op circa 1000 ha. Tabel B4.1 geeft een overzicht van de verschillende gewassen en hun arealen die tot de rundveehouderijsector in 1995 in gebruik had.

Tabel B4.1 Overzicht van de gewassen die in 1995 in de Bommelerwaard zijn geteeld en tot de rundveehouderijsector kunnen worden gerekend. Bron: CBS, 1996.

Gewas	Areaal (ha)	areaal (%)
Blijvend grasland	6469	83
Snijmaïs	970	13
Tijdelijk grasland	112	2
Corncob-mix	3	< 1
Korrelmaïs	< 1	< 1
Totaal	7555	100

Het areaal fruitteelt in de Bommelerwaard bedraagt bijna 500 hectare. In de fruitteelt kent de teelt van appels het grootste areaal, gevolgd door peren. Tabel B4.2 geeft een overzicht van de verschillende fruitteeltgewassen en hun arealen.

Tabel B4.2 Overzicht van de fruitteeltgewassen die in de Bommelerwaard worden geteeld met hun bijbehorende arealen in 1995. Bron: CBS, 1996.

Gewas	Areaal (ha)	areaal (%)
Appel oude aanplant	300	62
Peren oude aanplant	156	32
Peren nieuwe aanplant	12	3
Overige gewassen	12	2
Appel nieuwe aanplant	9	2
Totaal	489	100

Het areaal glastuinbouw in de Bommelerwaard bedraagt ruim 250 hectare. De teelt van bloemen onder glas is verreweg de belangrijkste teelt. Tabel B4.3 geeft een overzicht van de kas-teelten met het grootste areaal.

Tabel B4.3 Overzicht van de gewassen die in 1995 in de Bommelerwaard onder glas zijn geteeld; weergegeven zijn 10 gewassen met het grootste areaal in 1995. Bron: CBS, 1996.

Gewas	areaal (ha)	areaal (%)
Chrysant	92	35
div. bloemkwekerijgewassen	52	20
Freesia	30	12
div. snijbloemen	16	6
Aardbeien	16	6
Rozen	13	5
Anjers	11	4
Paprika	10	4
Alstroemeria	5	2
Potplanten voor de bloei	4	2
Overige gewassen (n = 10)	11	4
Totaal	258	100

De drie hiervoor behandelde teeltsectoren nemen gezamenlijk 90% van het landbouwareaal in beslag. De resterende 10% is voornamelijk in gebruik bij de akkerbouw. Tabel B4.4 geeft een

overzicht van de belangrijkste gewassen en hun arealen die tot de groep van de overige gewassen kunnen worden gerekend.

Tabel B4.4 Overzicht van de belangrijkste gewassen uit de andere teeltsectoren die in de Bommelerwaard in 1995 zijn geteeld. Bron: CBS, 1996.

Gewas	areaal (ha)	areaal (%)
Aardappel	234	24
Braakland	197	20
Wintertarwe	194	20
Suikerbieten	85	9
Overige gewassen (n = 48)	254	26
Totaal	963	100

Met ruim 80% heeft de veehouderijsector het grootste deel van de cultuurgrond in gebruik. Andere teelten met een opvallend groot areaal zijn de fruitteelt en de bloementeelt onder glas. De grond in de Bommelerwaard die niet in productie wordt genomen door de landbouw, zo'n 7.000 ha, kent gebruiksfuncties als bebouwing, infrastructuur, natuur en open water.

Chemische monitoring in de Bommelerwaard

Het oppervlaktewater van de Maas, de Afgedamde Maas en de Bommelerwaard wordt middels reguliere en projectgebonden meetnetten gemonitord op zijn kwaliteit. Naast algemene fysisch-chemische parameters als zuurgraad, zuurstofgehalte, (metaal)zouten (Na+, K+, Cl-) en doorzicht, zijn de metingen ook gericht op het voorkomen van milieuvreemde stoffen als polychloorbifenylen (PCB's), polycyclische koolwaterstoffen (PAK's), nutriënten en bestrijdingsmiddelen. In de volgende paragrafen worden de meetresultaten besproken van de nutriënten en de bestrijdingsmiddelen.

Opzet meetprogramma's

In de Maas, de Afgedamde Maas en in de Bommerwaard worden metingen uitgevoerd naar het voorkomen van nutriënten en bestrijdingsmiddelen. Deze metingen worden uitgevoerd door het Zuiveringsschap Rivierenland (Bommelerwaard), het Duinwaterbedrijf Zuid-Holland (Bommelerwaard en Afgedamde maas) en Rijkswaterstaat (Maas). De resultaten uit de meetperiode 1996-1998 zijn hier gebruikt om een actueel beeld te krijgen van de kwaliteit van de genoemde wateren.

Bommelerwaard:

Het oppervlaktewater in de Bommelerwaard wordt door het Zuiveringsschap Rivierenland (ZSR) en het Duinwaterbedrijf (DZH) op in totaal 18 lokaties bemonsterd. Het betreft 11 verspreide lokaties die in een regulier meetnet zijn opgenomen (ZSR), 3 lokaties ten zuiden van Zaltbommel en Gameren die deel uitmaken van het projectmeetnet Glastuinbouw (ZSR) en de aanvoerkanaal van de 4 westelijke gemalen die uitslaan op de Afgedamde Maas (DZH).

De meetpakketten verschillen sterk tussen de monsterlokaties. Op de 11 reguliere meetpunten worden alleen enkele organochloor-bestrijdingsmiddelen gemeten. In het glastuinbouwmeetnet worden deze niet gemeten, maar wordt wel een uitgebreid pakket aan andere bestrijdingsmiddelen aan een analyse onderworpen. Ook het meetpakket dat wordt gehanteerd voor het aanvoerkanaal van het gemaal van Dam van Brakel is voor wat betreft bestrijdingsmidde-

len heel uitgebreid. Dit i.t.t. de meetpakketten van de overige drie aanvoerkanalen waar vrijwel geen bestrijdingsmiddelen worden gemonitord.

Ook de meetfrequentie verschilt van monsterpunt tot monsterpunt. Bestrijdingsmiddelen worden over het algemeen eens per maand gemeten. De bestrijdingsmiddelenmetingen in het aanvoerkanaal van het gemaal van Dam van Brakel vinden variërend plaats van twee- tot vierwekelijks.

Maas:

Het water in de Maas wordt uitsluitend gemeten door Rijkswaterstaat en wel op een tweetal punten. Het eerste punt ligt bij het pontveer Heusden, net vóór de aftakking van het Heusdens kanaal; het tweede punt is voorbij die aftakking stroomafwaarts bij het Keizersveer.

De meetpakketten zijn ook hier niet identiek. Bestrijdingsmiddelen die bij Heusden gemonitord worden komen niet voor in het analysepakket van Keizersveer en omgekeerd. Overigens betreft het hier wel een breed meetpakket dat gemiddeld eens per maand wordt uitgevoerd.

Afgedamde Maas:

Het water van de Afgedamde Maas wordt op 14 verschillende lokaties gemonitord door het Duinwaterbedrijf. Slechts op één van deze lokaties wordt bemonsterd voor de analyse van nutriënten en een breed pakket aan bestrijdingsmiddelen. De analyses van het bestrijdingsmiddelenpakket vinden maandelijks plaats. Naast de bemonstering op deze 14 lokaties wordt ook het ingenomen water door DZH gemonitord. Het betreft hier een breed pakket aan nutriënten en bestrijdingsmiddelen die wekelijks tot maandelijks worden gemeten.

Resultaten chemische monitoring

Er wordt hier volstaan met een opsomming van de verbindingen die boven de MTR zijn aangetroffen.

In Tabel B4.5 worden 16 verschillende bestrijdingsmiddelen gegeven die bij één of meer metingen de MTR overschreden. Drie van de middelen (endosulfan, aldrin en ddt) zijn slechts één maal in een watermonster aangetroffen. Van de overige 13 middelen behoren er 5 tot de organofosfor esters, 4 tot de carbamaten, 2 tot de ureumverbindingen en 1 tot de triazines.

Tabel B4.5 Stoffen aangetroffen in oppervlaktewater in concentraties boven hun MTR.

Werkzame stof	Maximale concentratie (µg/l)	MTR (µg/l)
<u>Bommelerwaard</u>		
Parathion-ethyl	1,30	0,002
Dichloorvos	1,10	0,0007
Carbofuran	1,00	0,91
Methiocarb	0,90	0,016
Simazin	0,39	0,14
Mevinfos	0,38	0,002
Pirimicarb	0,19	0,09
Dinoterb	0,10	0,03
Endosulfan*	0,027	0,02
Chloorfenvinfos	0,01	0,002
Aldrin*	0,002	0,001
DDT*	0,002	0,0009
<u>Maas</u>		
Diuron	0,98	0,43
Isoproturon	0,48	0,32
Simazin	0,29	0,14
<u>Afgedamde Maas</u>		
Diuron	0,52	0,43
Simazin	0,36	0,14
Mevinfos	0,11	0,002
Dichloorvos	0,06	0,0007
Malathion	0,02	0,013
Propoxur	0,02	0,01
Methiocarb	0,02	0,016

* Deze organochloorverbindingen zijn slechts in één monster aangetoond; alle andere monsters beneden de detectielimiet.

Bijlage 5 Veldexperimenten

In deze bijlage worden de werkwijze en de resultaten van de twee veldexperimenten besproken.

5.1 Werkwijze

Algemeen

Mede ingegeven door praktische overwegingen zijn twee locaties in de omgeving van Leiden, binnen het gebied van het Hoogheemraadschap van Rijnland gekozen, waar naar verwachting veel bestrijdingsmiddelen worden gebruikt. De gebieden verschillen echter aanzienlijk wat betreft grondsoort en gewassen, en daarmee ook in bestrijdingsmiddelengebruik.

Gebiedsbeschrijving

Bollenteelt

Het eerste experiment vond plaats in de Hoogeteense polder, nabij Lisse (zie voor kaartje en beschrijving monsterpunten bijlage 5.1.A), van 24 augustus 1999 tot 7 september. Als referentie werd de Lageveense polder gekozen, deze ligt aan de overzijde van de Haarlemmertrekvaart; in deze polder vindt veeteelt plaats, en de polder is gedeeltelijk in handen van het Zuid-Hollands Landschap. Hierdoor zijn er een aantal extensief beheerde graslanden, en zijn er veel percelen met bossen.

In de Hoogeteense polder worden voornamelijk bloembollen geteeld (zie tabel B5.1), waarbij het roulatie-schema zich concentreert rond de tulp. Het gebied is relatief complex vanwege de vele kleinere velden met tal van kleinere teelten. Op het moment van uitvoering van het experiment lagen veel velden braak of was er een groenbemester ingezaaid. Op enkele velden vond nog een bespuiting plaats met herbiciden tegen onkruiden. Daarnaast waren er tal van kleinere percelen waar diverse soorten bloemen werden geteeld, die op het moment van het experiment werden geoogst. Op kleine schaal vond ook nog teelt onder glas plaats.

Tabel B5.1 Overzicht van de gewassen die in 1998 in de gemeente Noordwijkerhout zijn geteeld, Bron: CBS, 1998.

Gewas	Areaal (ha)	Areaal (%)
Tulp	374	33
Hyacint	290	25
Narcis	229	20
Overige bloemkwekerijgew.	87	8
Gladiol	64	6
Overige bolgewassen	62	5
Sierteelt o.g.	21	2
Overige snijboemen o.g.	12	1
Totaal	1139	100

Een praktisch voordeel van de vele kleine velden en de grondsoort (zand) was de goede bereikbaarheid van de diverse watergangen.

In de betreffende periode wordt er in de bollenstreek nog nauwelijks gespoten; in een aantal gevallen wordt opkomend onkruid doodgespoten (glyfosaat, paraquat dichloride, MCPA/2,4 D).

Akkerbouw

Het tweede experiment vond plaats in de Haarlemmermeerpolder, nabij Nieuw-Vennep, van 14 t/m 28 september 1999 (zie bijlage 5.1.B). De Haarlemmermeerpolder is een relatief eenvormig gebied, met grootschalige percelen waarop met name aardappelen, tarwe, suikerbieten en graszaad in roulatie worden verbouwd (zie tabel B5.2).

Tabel B5.1 Overzicht van de belangrijkste gewassen die in 1998 in de gemeente Haarlemmermeer zijn geteeld, Bron: CBS, 1998.

Gewas	Areaal (ha)	Areaal (%)
Wintertarwe	3212	37
Consumptie aardappelen	2060	24
Suikerbieten	1998	23
Graszaad	602	7
Zomergerst	180	2
Zaaiuien	158	2
Bloekwekerijgewassen	152	2
Snijmais	123	1
Pootaardappelen	121	1
Glas:		
Potplanten	48	
Rozen o.g.	43	}1
Substraat bloemen	38	
Totaal	8735	100

Besputtingen die hier plaatsvinden zijn het doodspuiten van het aardappelroof, en eventueel besputtingen tegen luis, als er een warme, droge periode optreedt. Tot de oogst wordt er nog zeer regelmatig gespoten met fungiciden, waarvan sommigen ook toxisch zijn voor watervlooien.

Keuze monsterpunten

Uitgangspunten

De opzet was om 5 referentiepunten te kiezen, waarmee dan tevens een beeld verkregen wordt van de spreiding van de effectparameters in een onbelaste situatie. Vervolgens werden in principe 15 punten in het te onderzoeken gebied geplaatst. Deze punten bevatten in ieder geval het uitlaat- en inlaatpunten. Verder worden een aantal punten gekozen in de hoofdwatgangen, en zo mogelijk ook een aantal punten in de kavelsloten naast de meest kritische gewassen, zie hoofdstuk 3.

Praktijk

In het geval van de bollenstreek kon er een belendend referentie gebied worden gevonden. Hier zijn 5 monsterpunten gekozen, bij de inlaat en de uitlaat, in twee hoofdwatgangen en in één kleinere sloot. In het te onderzoeken gebied zijn 14 monsterpunten geplaatst; het aantal beschikbare watervlooien was net niet voldoende om 15 punten te plaatsen. De monsterpunten werden gekozen van het inlaatpunt tot het uitlaatpunt, en in 2 kavelsloten (zie bijlage 5.1.A).

In de Haarlemmermeerpolder bleek het niet mogelijk om een gebied te vinden, dat enigszins vergelijkbaar was, maar niet blootgesteld aan bestrijdingsmiddelen. Daarom zijn hier drie punten gekozen bij de inlaat van de Haarlemmermeerpolder uit de Kaag, en één punt in een park in hoofddorp, ten einde toch een indruk te krijgen van de effecten in niet met

bestrijdingsmiddelen belast water. In de polder zelf zijn vervolgens 14 punten uitgezet, één punt bij de uitlaat van de Haarlemmermeerpolder als geheel, en 13 punten in één peilvak tussen Nieuw-Vennip en Aalsmeer, waarbij punten zijn gekozen van de inlaat punten tot de uitlaatgemalen, en ook 3 punten in kavelsloten.

Bio-assay methode

Voor de bio-assays is gebruik gemaakt van de methoden, zoals beschreven in de protocollen. Kroos was afkomstig van de eigen kweek bij het CML. Watervlooien zouden oorspronkelijk worden verkregen van de eigen kweek van het Hoogheemraadschap van Rijnland; omdat deze kweek in de zomerperiode om onbekende redenen uitstierf, kon (per uitzondering) worden uitgeweken naar watervlooien, gekweekt door het RIZA.

Voor het eerste experiment is voor de watervlooien gebruik gemaakt van glazen potten met gazen deksels in de vorm van een koffie-filter. Deze modellen waren eerder bij het CML gebruikt, en garanderen een grote uitwisselen tussen water in de pot en uit de pot. Helaas bleek bij het ophalen dat de deksels minder goed afsloten, zodat relatief vaak andere evertibraten in de potjes werden aangetroffen, in één geval zelfs duikerwantsen. In het tweede experiment is gebruik gemaakt van de opstelling zoals beschreven in het protocol; hierbij deden zich de bovengenoemde problemen niet meer voor.

Bij de kroos-bioassay is er bij het eerste experiment gebruik gemaakt van bakjes, die van boven open waren en waar onderin gas was geplakt. In de praktijk bleek er hier veel kroos van buiten in de potjes te komen, zowel door het gas, langs het gas (de betreffende kunststof was slecht te lijmen) als bovenlangs door wind of grotere dieren (kikkers? vogels?). In het tweede experiment is de in de richtlijn beschreven opstelling gebruikt; hierbij was het bovengenoemde probleem veel geringer; alleen *Lemna minuscule* werd nog aangetroffen, waarschijnlijk omdat dit door het 1 mm gas heen kon. Dit kroos is echter gemakkelijk te onderscheiden van klein kroos, zodat dit bij het terugtellen van het kroos apart kan worden gehouden. Een kleinere maaswijdte van het gas lijkt, in verband met de blootstelling, niet gewenst. Een praktisch probleem van de kroosopstelling was dat in een enkel geval in sloten met veel kroos het kroos uit de sloot op de bakjes terecht kwam, waardoor de lichtval werd beïnvloed. Dit probleem kan worden opgelost door hogere bakjes te kiezen.

Metingen

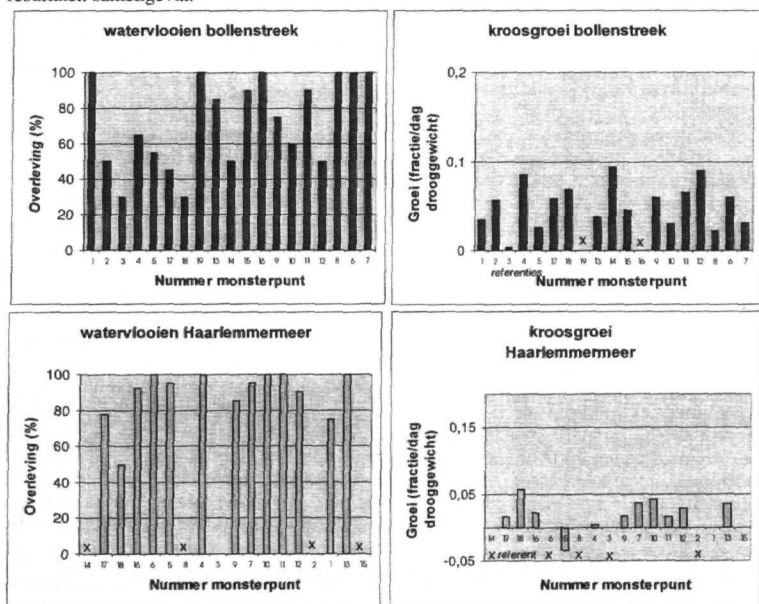
Op alle meetpunten is tegelijkertijd bij het inzetten van de bio-assays een watermonster doorgemeten op 60 bestrijdingsmiddelen die m.b.v. GC-MS zijn aan te tonen (zie bijlage 5.2). Naast de bovengenoemde zijn ook fysisch-chemische metingen verricht (zie bijlage 5.3).

Resultaten

Een belangrijk doel van de experimenten was het toetsen van de praktische uitvoerbaarheid en het traceren van praktische problemen. Enkele aspecten voor wat betreft de bioassay methode zijn hierboven genoemd en verwerkt in de protocollen. Een ander belangrijk aspect is het uitvallen van monsterpunten. Bij het eerste experiment lagen die monsterpunten niet langs de openbare weg. Slechts een enkel monsterpunt was hier door een ingreep van buiten onbruikbaar: het betrof hier vooral de goed zichtbare opstelling van de kroostoets, die in enkele gevallen onder water of op de kant was getrokken. Bij het tweede experiment lagen veel monsterpunten langs de openbare weg. Het gevolg hiervan was dat ook veel opstellingen

waren vernield, of zelfs geheel verdwenen. Dit gold zowel voor de kroos als voor de watervlooien opstelling. Een bijkomend probleem was hier dat vanwege de kans op slootschonen of verwijderen van kroos de opstellingen opvallend waren geplaatst om de kans op vernieling tijdens schonen te voorkomen; dit maakt de opstellingen echter extra kwetsbaar voor vandalisme.

In bijlage 5.4 staan de resultaten van de metingen weergegeven. In figuur B5.1 zijn de resultaten samengevat.



Figuur B5.1 Samenvatte resultaten van de veldexperimenten.

De monsterpunten zijn in de figuur in volgorde van veronderstelde gradiënt afgebeeld, te beginnen met de onbelaste punten, dan de inlaatpunten etc. Uit de figuur blijkt niet dat er een gradiënt in effect wordt gevonden. Op de y-as staat de overleving van de watervlooien weergegeven in de linkerfiguren en in de rechterfiguren de kroosgroeisnelheid per dag.

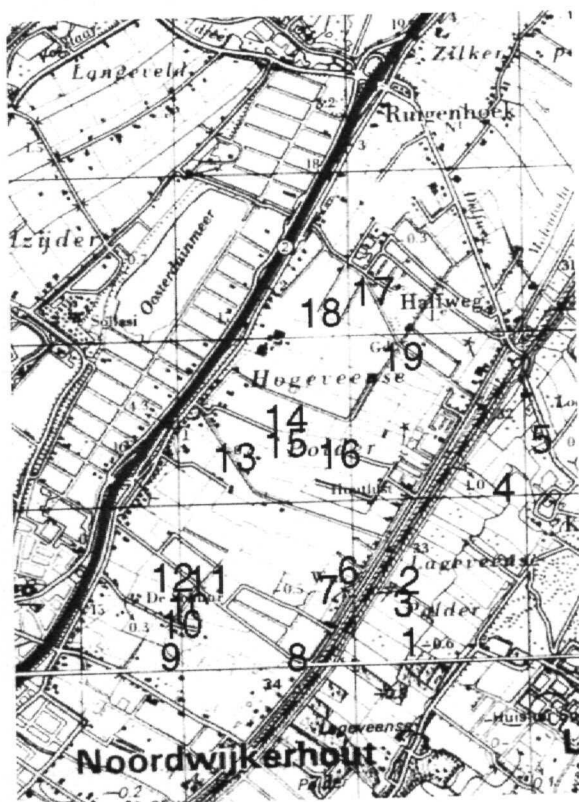
Uit figuur B5.1 op dat er een grote spreiding in sterfte van watervlooien en groei van kroos optreedt in de onbelaste situatie. Dit maakt het vergelijken van de referentie met de blootgestelde situatie weinig zinvol; wanneer er verschillen worden getoetst dan blijken deze (zoals verwacht) niet significant.

In het eerste experiment in de bollenstreek werd gebruik gemaakt van nog in ontwikkeling zijnde opstellingen. In het geval van watervlooien betekende dit helaas dat er gaten tussen het deksel en het gaas aanwezig bleken, zodat niet uitgesloten mag worden dat er watervlooien

zijn ontsnapt of dat er predatie heeft opgetreden. Hoogstwaarschijnlijk verklaart dit de relatief hoge sterftepercentages. In de verbeterde opzet in de Haarlemmermeerpolder blijkt er relatief weinig sterfte op te treden. Op punt drie zijn wel alle watervlooien dood; dit is tevens het punt met het hoogste gehalte aan bestrijdingsmiddelen (zie bijlage 5.5). Een verdenking gaat hier in de richting van pirimicarb. Zie verder hoofdstuk 4.

Voor wat betreft het experiment met kroos zijn de resultaten van het eerste experiment niet te interpreteren, omdat het teveel kroos van buiten de bakjes in de bio-assays terecht kwam. Bij het tweede experiment was dit niet het geval. Hier worden verschillen aangetroffen tussen de punten. Een relatie met de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen ligt, mede gezien de lage concentraties, niet voor de hand. Het vergelijken van de kroosgroei met de referentie is weinig zinvol, gezien de spreiding in de referentie.

Bijlage 5.1A Monsterpunten bollengebied.



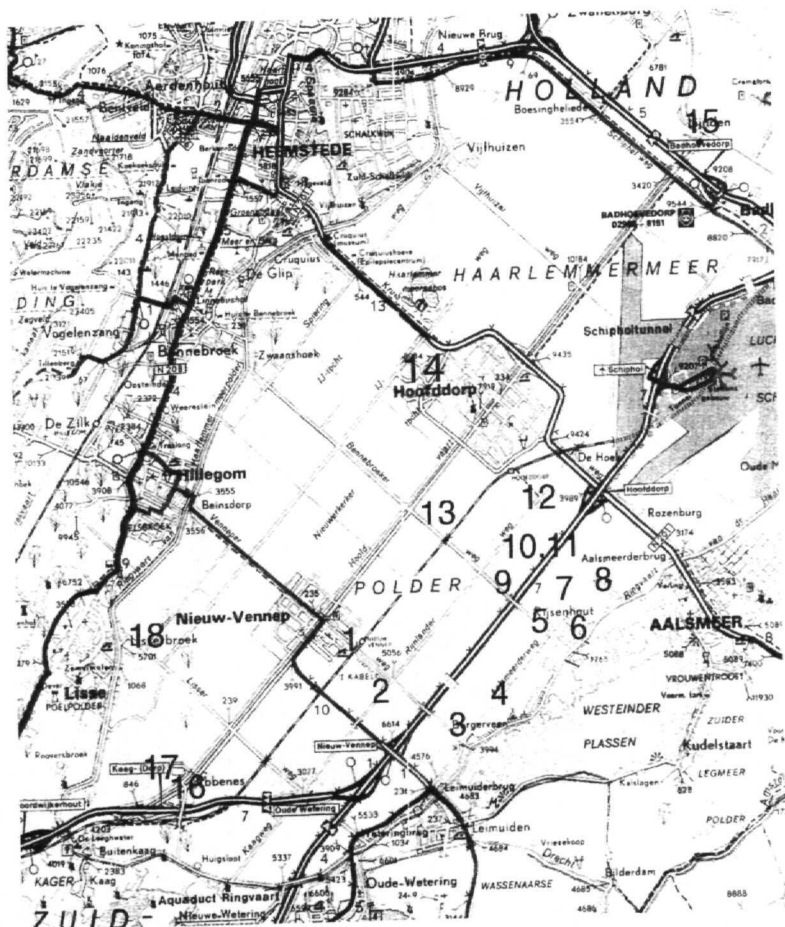
Beschrijving monsterpunten bollengebied.

De diepte geldt steeds op de plaats waar de bio-assays werden ingezet.

1 t/m 5: Lageveense Polder. Ondergrond veen op zand. Afwisselend reservaat, weilanden en bossen.

- 1: Bij inlaat van polder; sloot ca. 4 m breed, 30 cm diep. Tussen weilanden.
- 2: Punt bij oude Molen, niet meer in gebruik als uitlaatpunt. Breedte: ca. 4 m. Diepte ca. 250 cm. Tussen schraal grasland.
- 3: Geïsoleerde, zeer voedsel arme watergang, met natuurlijk zomer/winterpeil. ca. 2 m breed, 25 cm diep. Zeer helder. Tussen schraal grasland
- 4: Hoofdwatgang: breedte 5 m. 30 cm diep. Zeer veel kroos. tussen weilanden.
- 5: Bij (automatisch) gemaal: breedte: 5 m. Diepte 40 cm. In bossage.
- 6 t/m 19: Hogeveense polder. Ondergrond zand. Bollenpolder.
- 6: Bij Molen. Brede molensloot (7 m), diepte ca. 50 cm. via dit punt watert de helft van de polder af; molen wordt met de hand aan en uitgezet.
- 7: Bij Molen. Zie bij 6; via dit punt watert de andere helft van de polder af.
- 8: Hoofdwatgang naar de molen. 7 m breed. > 50 cm diep. Onder boom.
- 9: Afvoerende watergang, tussen braakliggende bollenpercelen. 6 m breed, 25 cm diep, veel kroos.
- 10: Hoofdwatgang; 7 m breed; 50 cm diep.
- 11: Hoofdwatgang. 5 m breed. < 20 cm diep.
- 12: Perceelsloot. 4 m, 20 cm diep. sloot vol kroos.
- 13: Hoofdwatgang, 5 m breed, 30 cm diep. Veel watergentiaan; "olie"laagje op water.
- 14: Hoofdwatgang, 4 m breed, 20 cm diep. Veel kroos.
- 15: Kavelsloot. 2 m breed, 20 cm diep.
- 16: Hoofdwatgang, 6 m breed, 30 cm diep. veel watergentiaan.
- 17: Inlaatpunt. 6 m breed. 25 cm diep. Veel kroos.
- 18: Kavelsloot. Net geschoond. troebel. 2 m breed. 20 cm diep.
- 19: Hoofdwatgang. 6 m breed. 40 cm diep.

Bijlage 5.1.B Monsterpunten Haarlemmermeerpolder.



Beschrijving monsterpunten Haarlemmermeerpolder.

Alle monsterpunten liggen binnen de Haarlemmermeerpolder. De ondergrond is hier zeeklei.
Punt 1 t/m 13 liggen allemaal binnen één peilvak.

- 1: Bij gemaal van peilvak. 8 m breed. 50 cm diep. Veel kroos.
- 2: In hoofdwatgang naar gemaal. 8 m breed. 60 cm diep. Veel kroos.
- 3: Hoofdwatgang. 3 m breed. 30 cm diep. veel kroos.
- 4: Hoofdwatgang. Bij kas. 6 m breed. 40 cm diep.
- 5: Hoofdwatgang. 4 m breed. 30 cm diep, veel kroos. Langs bossage.
- 6: Bij inlaat tussen bebouwing. 6 m breed. 40 cm diep. Stroming.
- 7: Perceelsloot tussen aardappelen en tarwe. 1 m breed, 15 cm diep.
- 8: Hoofdwatgang van inlaat. 5 m breed. 40 cm diep. Veel kroos.
- 9: Hoofdwatgang. Naast snelweg. 6 m breed. 50 cm diep.
- 10: Perceelsloot, tussen Aardappelen en bieten. 1,5 m breed. 20 cm diep.
- 11: Perceelsloot, naast bieten. 2 m breed. 20 cm diep. Veel kroos.
- 12: Hoofdwatgang. 8 m breed. > 50 cm diep.
- 13: Hoofdwatgang, bij gemaal. 6 m breed., 50 cm diep; rietbegroeiing.
- 14: Brede watgang in park in hoofddorp. 6 m breed, 50 cm diep.
- 15: Bij gemaal Lijnden: uitlaatgemaal voor gehele Haarlemmermeerpolder. Hoofdvaart, 9 m breed, 60 cm diep.
- 16: Bij gemaal Leeghwater. Inlaatpunt Haarlemmermeerpolder uit Kaag; reserve uitlaat gemaal. Niet in functie tijdens experiment. Hoofdvaart 9 m breed, 60 cm diep.
- 17: Aanvoersloot, kaagwater. 1 m breed, 15 cm diep. Veel gras.
- 19: Aanvoersloot in Lisserbroek; punt in inlaatconstructie.

Bijlage 5.2 Onderzochte bestrijdingsmiddelen.

atrazin	lindaan
azinfos-methyl	metalaxyl
bitertanol	metamitron
bupirimaat	metazachloor
carbaryl	metolachloor
carbofuran	metribuzin
chloorfenvinfos	mevinfos
chloorprofam	parathion (ethyl)
chloorpyrifos	parathion-methyl
chloridazon	pirimicarb
cyanazin	pirimifos-methyl
desethylatrazin	procymidon
desisopropylatrazin	prometryn
desmedifam	propachloor
desmetryn	propiconazool
diazinon	propoxur
dichlobenil	propyzamide
dichloorvos	prosulfocarb
diethyltoluamide	pyrazofos
dimethoat	pyrimethanil
dimethomorf	simazin
dodemorf	terbutryn
ethofumesaat	terbutylazin
ethoprosfos	THPI
fenpropimorf	tolclofos-methyl
flutolanil	tri-allaat
fosalon	triadimenol
furalaxyl	vinchlozolin
iprodion	
kresoxim-methyl	

Bijlage 5.3 Onderzochte fysisch chemische parameters

De volgende fysisch chemische parameters zijn door het Hoogheemraadschap van Rijnland bepaald.

Zuurtegraad
Stikstof Keldahl
Ammonium-N
Nitraat-N + Nitriet-N
Stikstof totaal
Fosfaat P-Ortho
Fosfaat P-totaal
Chloride
Sulfaat
Geleidingsvermogen
Waterstofcarbonaat
Calcium

Bijlage 5.4.A Resultaten veldproef bollenstreek

Monster punt	Watervlooiën 7 dagen		Jongen #	Gem Jongen	Kroos 14 dagen		gew mg	gem gewicht
	Overleving #	Gem overl			blaadjes #	Gem 14 dagen		
1	10	10	30	30	125	130	13,8	16,35
		10	30		135		18,9	
2	5	5	30	30	150	200	24,5	33,75
		5	30		250		43	
3	2	3	25	22,5	13	13,5	5	5,95
		4	20		14		6,9	
4	4	6,5	30	35	200	200	85,4	82,65
		9	40		200		79,9	
5	5	5,5	35	30	175	92	18	12,1
		6	25		9		6,2	
6	10	10	45	45	300	175	64,2	37
					50		9,8	
7	10	10	50	50	80	82,5	12,9	14,4
		10	50		85		15,9	
8	10	10	60	50	60	72,5	9,2	10,85
		10	40		85		12,5	
9	8	7,5	30	30	100	75	63,3	36,25
		7	30		50		9,2	
10	10	6	40	22,5	125	87,5	19,5	13,9
		2	5		50		8,3	
11	10	9	75	62,5	150	150	42,6	44,35
		8	50		150		46,1	
12	7	5	10	7,5	500	350	136,4	97,75
		3	5		200		59,1	
13	10	8,5	20	20	50	55	18,2	18,1
		7	20		60		18	
14	8	5	20	12,5	300	250	133,9	109,85
		2	5		200		85,8	
15	8	9	15	22,5	15	57,5	14,8	22,85
		10	30		100		30,9	
16	10	10	50	50 xxx				
		10	50	xxx				
17	4	4,5	35	35	150	175	21,3	35,9
		5	35		200		50,5	
18	3	3	50	50	200	212,5	49,9	49,6
					225		49,3	
19	10	10	60	52,5 xxx				
		10	45	xxx				

Bijlage 5.4.B Resultaten veldproef Haarlemmermeer; xxx = bakjes weg, vernield of anderszins onbruikbaar.

Monster punt	Watervlooiën 7 dagen			Gem jongen	Kroos 14 dagen			
	Overleving #	Gem Overl	Jongen #		Blaadjes #	Gem Blaadjes	Gewicht mg	Gem gewicht
1		8	8,5	40	35 xxx			
		7		30	xxx			
2 xxx					xxx			
xxx					xxx			
3	0	0	0	2,5	xxx			
	0		5	xxx				
4	10	10	40	40	0	7,5	0	1,65
	10		40		15		3,3	
5	10	9,5	50	45	5	6	1,2	0,95
	9		40		2		0,7	
6	10	10	30	30 xxx				
xxx				xxx				
7	9	9,5	25	27,5	100	50	19	9,5
	10		30		0		0	
8 xxx					xxx			
xxx					xxx			
9	8	8,5	25	27,5	40	25	6,1	5,2
	9		30		10		4,3	
10	10	10	25	25	75	67,5	14	11,5
	10		25		60		9,1	
11	10	10	25	25	30	22,5	7,1	4,8
	10		25		15		2,6	
12	8	9	30	35	20	72,5	3,2	7,4
	10		40		125		11,6	
13	10	10	40	35	30	65	5,7	8,9
	10		30		100		12,2	
14 xxx					xxx			
xxx					xxx			
15 xxx					xxx			
xxx					xxx			
16	10	9,25	20	20	90	55	7,8	5,95
	9		25		50		5	
	10		20		30		4	
	8		15		50		7	
17	9	7,75	30	27,5	20	36,25	4,4	4,875
	8		25		120		12,5	
	7		30		0		0	
	7		25		5		2,6	
18	4	5	15		150	150	18	18
	6		20	xxx				

Bollenstreek

[illegible]

Bijlage 5.6 Gemeten fysisch/chemische parameters

Bollenstreek

pH	N-kjeldahl	ammonium-N	nitriet-N	fosfaat-P-ortho	fosfaat-P-totaal	Chloride	Sulfaat	geleidbaarheidsbaarnfeld	waterstofcarbonaat	N-totaal	Calcium	
1	7,95	3,6	2	0,10	3,00	3,2	102	52	0,830	325	3,7	92
2	8,70	2,0	<0,2	0,07	2,80	3,1	118	50	0,760	255	2,1	71
3	7,65	2,8	<0,2	<0,05	0,20	0,4	63	46	0,520	205	2,9	65
4	7,90	3,0	1	0,48	2,60	2,6	87	41	0,690	270	3,5	76
5	7,85	3,0	0,87	0,50	2,40	2,4	86	42	0,680	260	3,5	74
6	8,20	5,1	2,2	0,62	5,60	6,0	76	37	0,910	470	5,7	125
7	8,20	5,6	2,5	0,64	5,00	6,0	78	36	0,920	475	6,2	125
8	8,10	6,0	3,7	0,26	6,10	6,6	82	30	0,920	480	6,3	125
9	9,35	2,2	<0,2	<0,05	0,63	0,9	121	48	0,710	230	2,3	61
10	8,40	5,6	2,6	0,10	4,60	6,0	85	31	0,850	430	5,7	105
11	8,00	5,7	3,8	0,07	6,80	8,0	81	31	0,910	475	5,8	115
12	7,95	5,6	4,4	0,09	6,20	6,6	78	38	0,920	480	5,7	120
13	7,95	2,8	0,86	0,61	4,90	5,3	59	35	0,820	445	3,4	115
14	7,95	4,0	0,9	0,06	7,80	9,7	63	37	0,930	490	4,1	115
15	8,15	4,0	1,3	0,05	7,00	9,0	61	29	0,930	550	4,1	130
16	7,85	6,3	3,7	0,10	7,60	8,7	75	28	1,070	620	6,4	145
17	8,00	2,8	0,99	0,35	3,80	4,2	74	31	0,770	370	3,2	97
18	7,85	11,0	8,7	0,05	6,80	8,4	68	22	1,050	640	11,0	145
19	8,15	7,3	4,9	0,16	6,40	7,6	70	26	0,960	570	7,5	135

Haarlemmermeerpolder

pH	N-Hieldahl	ammonium-N	ammonium-N	ammoniak-N	nitraat-N	fosfaat-P	fosfaat-P	Chloride	Sulfaat	geleidbaarheids	waterstofcarbonaat	N-totaal
1	7,95	1,8	0,25	<0,10	0,06	0,96	1,10	290	149	1,550	390	1,9
2	7,70	2,0	0,76	0,020	0,53	0,10	0,16	610	93	2,360	370	2,5
3	7,70	2,8	1,00	0,020	0,17	0,49	1,20	134	92	0,950	310	3,0
4	7,70	4,6	1,90	0,040	0,50	0,31	0,74	133	73	0,980	370	5,1
5	7,55	3,5	1,80	0,030	0,08	0,51	0,70	123	96	0,920	300	3,6
6	8,15	2,4	0,25	0,020	0,08	0,18	0,30	125	120	0,860	230	2,5
7	7,50	6,9	5,70	0,080	<0,05	<0,05	0,36	227	29	1,690	840	7,0
8	7,85	2,3	1,00	0,020	0,43	0,42	0,56	123	112	0,910	270	2,7
9	7,85	1,8	0,44	0,010	0,07	0,98	1,10	190	103	1,130	325	1,9
10	7,40	2,7	0,25	<0,010	<0,05	1,10	1,30	151	114	1,020	315	2,8
11	7,45	1,9	0,21	<0,010	<0,05	1,20	1,30	155	110	1,030	310	2,0
12	7,85	2,0	0,37	0,010	0,77	0,57	0,80	160	108	1,080	345	2,8
13	7,65	2,4	1,10	0,020	0,44	0,13	0,36	670	123	2,560	395	2,8
14	8,20	2,6	0,64	0,040	0,09	1,10	1,70	670	102	2,650	500	2,7
15	7,90	2,4	0,73	0,030	0,88	0,55	0,78	545	114	2,200	365	3,3
16	8,45	3,1	<0,2	0,020	0,37	0,56	0,72	91	0,990	280	3,2	
17	8,20	2,7	<0,2	0,010	0,39	0,46	0,84	136	90	0,890	265	3,1
18	7,95	1,7	0,23	<0,010	0,27	0,48	0,54	137	91	0,900	260	2,0

Bijlage 6 Rol van bio-assays bij de waterkwaliteitsbeheerders: Interviews.

Algemeen

De waterkwaliteitsbeheerders in Nederland zijn goed op de hoogte van de problematiek rond bestrijdingsmiddelen. Met name ook de invoering van de AMvB open teelten speelt op dit moment een belangrijke rol. Daarnaast hebben de waterkwaliteitsbeheerders ook een belangrijke rol als vergunningsverleners in het kader van de WVO. Dit betekent dat er in algemene zin behoefte bestaat aan instrumenten om het voorkomen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater aan te tonen, maar ook om de effectiviteit van de maatregelen te meten.

Specifiek

Zuiveringsschap Hollandse Eilanden en Waarden (telefonisch interview met ir. M.I. Mul (ZHEW) aangevuld met gegevens van drs. J.G. de Geus-van der Eijk (Bureau Eijkpunt).

Bij het Zuiveringsschap Hollandse Eilanden en Waarden is men in zes akkerbouwvolders in de Hoekse Waard, het Eiland van Dordrecht, Voorne Putten en Goeree Overflakkee chemische metingen gaan verrichten, specifiek aan die middelen waarvan bekend is dat ze ter plekke gebruikt worden. Op deze wijze kon overtuigend aan de doelgroep worden aangetoond dat de gebruikte middelen tot een probleem voor het oppervlaktewater aanleiding geven. Tevens zijn met behulp van de metingen de problemen voor het waterschap duidelijk in kaart gebracht. Ook voor de monitoring van de effecten van het beleid (maatregelen) is men van plan metingen te gebruiken. In de communicatie naar de doelgroep bleek dit de meest duidelijke lijn.

Bio-assays

Het bestuur van het zuiveringsschap ZHEW achtte het naar aanleiding van de resultaten in Delfland zinvol om ook in het eigen gebied bio-assays uit te voeren. De gedachte was dat hiermee de resultaten verder konden worden onderbouwd en dat dit ook in de communicatie naar de doelgroep een rol kon spelen. De bio-assay had geen functie meer als signalering omdat de problemen reeds voldoende bekend waren. De uitvoering werd uitbesteed aan bureau Eijkpunt. Er werd (evenals bij de metingen) voor een poldergerichte benadering gekozen, dat wil zeggen dat er werd gemeten bij het inlaatpunt, in de polder en bij het uitlaatpunt. Uit de resultaten van beide methoden bleek dat er bij de inlaat geen middelen c.q. de laagste sterfte werd gemeten. In de polder werden de hoogste gehalten en de hoogste sterfte gemeten; bij het uitlaatpunt waren zowel gehalte als sterfte lager dan in de polder.

Voor wat betreft de uitvoering van de bio-assay is gebruik gemaakt van de methode zoals gebruikt in Delfland. Om de methode in de vingers te krijgen is de uitvoerend onderzoekster een dag mee geweest met de onderzoekers van Delfland. Praktische problemen bij de uitvoering waren: verdwijnen van opstellingen door baggeren of schonen van de sloten; binnendringen van bloedzuigers in de potten wanneer het gas niet geheel afslot; zinken van potten bij te kleine luchtbel. De methode van Delfland bleek te voldoen, de betreffende onderzoekster geeft aan voor wat betreft de uitvoering geen behoefte te hebben aan een andere of gedetailleerdere richtlijn. Een eerste experiment gaf reeds significante verschillen tussen blootgestelde en referentie gebieden te zien. Richtlijnen voor wat betreft de interpretatie van de resultaten en het meten van andere (eventueel storende of sturende) variabelen ontbreken.

De resultaten van de bio-assays waren in lijn met die van de metingen. De resultaten waren echter niet zo duidelijk als in Delfland; de sterfte was vaak minder dan 100% en de correlatie met het middelengebruik kon niet eenduidig worden gelegd. In de communicatie naar de doelgroep bleek dat de resultaten van de chemische metingen veel duidelijker aansloten bij de beleving van de boeren, dan die van de bio-assays. De doelgroep hechte geen belang aan de bio-assay resultaten.

Als reden voor het niet vinden van een eenduidig verband met de middelen werden onder andere genoemd het feit dat de chemische meting slechts een moment opname betrof en dat combinatie toxiciteit een rol zou kunnen spelen en de constatering dat ook andere aspecten van invloed zijn op de bio-assay (temperatuur, zuurstof, andere toxische stoffen e.d.).

De indruk die men bij het ZHEW van de toets heeft is dat die wellicht een rol zou kunnen spelen als oriënterend instrument. Echter als er een effect wordt gevonden zouden altijd chemische metingen moeten volgen. Deze stap was echter in het onderhavige geval reeds een gepasseerd station. De resultaten van de metingen waren zo duidelijk dat de bio-assay hier niets meer aan toe kon voegen, zeker niet in de communicatie naar de doelgroep. Ook als monitoringsinstrument voor de effectiviteit van het beleid ziet men veel meer in metingen. Wellicht dat op de veel langere termijn een biotoets als monitoringsinstrument weer aan de orde zou kunnen komen.

Bij de voorlichting naar buiten toe, anders dan naar de boeren, worden de resultaten van de bio-assays wel gebruikt om de effecten van het bestrijdingsmiddelengebruik te illustreren.

Samenvattend kan gesteld worden dat het protocol van Delfland voor wat betreft de uitvoering van de bio-assay met watervlooiën voldoet. De bio-assay leverde de verwachte resultaten op; mogelijk toonde de toets zelfs effecten aan die niet met de metingen konden worden aangetoond. Een richtlijn voor interpretatie en uitwerking van de resultaten ontbreekt; dit geldt ook voor de keuze van en het aantal monsterpunten, en de eventuele noodzaak voor het meten van andere factoren. Het ZHEW had middels metingen reeds een zo duidelijk overzicht van de problematiek, dat de bio-assays hier niet voldoende aan toevoegden om de voortzetting te rechtvaardigen; ook voor de communicatie met de doelgroep boeren speelden de bio-assays geen belangrijke extra rol.

Hoogheemraadschap West-Brabant (telefonisch interview met G.W.A.M. Waajen).

In de boomteelt en de akkerbouw heeft men, in navolging van Delfland, bio-assays met watervlooiën uitgeprobeerd. Doel hiervan was om de agrarische doelgroep te kunnen overtuigen van de ernst van de emissies van bestrijdingsmiddelen en de noodzaak van driftbeperkende maatregelen. Effecten in de bio-assays werden overtuigender geacht dan chemische metingen.

De resultaten van de bio-assays waren echter onvoldoende duidelijk om aan het bovengenoemde doel te beantwoorden; dit betrof zowel sterfte op referentielocaties, als het ontbreken van effecten op blootgestelde locaties. Er is echter vooraf geen procedure gevolgd waaruit bleek dat er onder de betreffende omstandigheden en bestrijdingsmiddelengebruik daadwerkelijk effecten verwacht mochten worden.

Een gestandaardiseerde procedure zou voor het betreffende waterschap de doelmatigheid van het inzetten van de bio-assays waarschijnlijk zeer kunnen vergroten.

Hoogheemraadschap van Delfland (telefonisch interview met W. van der Ende)

In het gebied van Delfland wordt de watervlooiendoets al bijna 10 jaar met succes toegepast. In het algemeen zijn er duidelijke resultaten, waarbij de effecten in de blootgestelde sloten duidelijk verschillen van die in de referenties. Het inzetten van veel verschillende punten in tijdreeksen zorgt voor een erg duidelijk beeld van de gebieden waar problemen optreden.

De reden waarom destijds werd besloten om bio-assays toe te passen is dat het in de praktijk onmogelijk is om alle in het water aanwezige bestrijdingsmiddelen en andere chemische verbindingen te meten. Het gebruik van bestrijdingsmiddelen is bovendien aan veranderingen onderhevig en lang niet alle stoffen kunnen worden geanalyseerd. Omdat onderzoek van de gehele levensgemeenschap (of zelfs alleen de macrofauna) erg arbeidsintensief is, is gekozen voor het gebruik van een toetsorganisme. Een toetsorganisme, dat aan alle stoffen in het water bloot staat, is een goede graadmeter voor de toestand van dat water. Een biologische toets zegt ook veel directer iets over de toxiciteit dan een serie chemische bepalingen. Als toetsorganisme is *Daphnia magna* gekozen.

Naast voorgaande overwegingen bleek ook bij de communicatie over de slechte waterkwaliteit in glastuinbouwgebieden de sterfte van de *Daphnia*'s veelal meer aan te spreken dan de gehalten aan stoffen.

De meetpunten betreffen glastuinbouwpunten, referentiepunten en basismetpunten. De glastuinbouw- en referentiepunten zijn zo gekozen, dat effecten van lozingen vanuit de glastuinbouwbedrijven op de oppervlaktewaterkwaliteit kunnen worden gemeten. De basismetpunten geven een globaal beeld van de waterkwaliteit in Delfland.

Er worden duidelijke resultaten gevonden door de bio-assays met watervlooiën gedurende een seizoen op een groot aantal punten (24) uit te zetten (het in de praktijk uitzetten van deze punten kost ongeveer 2 dagen; ook het ophalen + controleren kost ongeveer 2 dagen). Door een herhaling in ruimte en tijd ontstaat een goed beeld van de belasting van het glastuinbouwgebied. In Delfland heeft men op de referentiepunten twee potten ingezet, met 10 watervlooiën van 10 dagen oud elk, en op de overige punten één pot.

De resultaten van de toxiciteitstoetsen in glastuinbouwgebieden zijn vergeleken met de referentiegebieden om de ernst van de situatie op het gebied van waterkwaliteit in glastuinbouwgebieden duidelijk te maken en om effecten van genomen maatregelen te kunnen volgen. Verder zijn de resultaten van de bio-assays ook vergeleken met de chemische metingen van voornamelijk bestrijdingsmiddelen om een verband te vinden met gehalten aan bepaalde stoffen. Bij Delfland worden de goede resultaten mogelijk veroorzaakt doordat er aanzienlijke hoeveelheden bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater voorkomen, waardoor hoge sterfte optreedt, terwijl dit in de referentiegebieden niet het geval is (lage sterfte). Op andere meetpunten is dit beeld minder duidelijk. Een richtlijn waarin wordt aangegeven onder welke omstandigheden een *Daphnia*-toets al dan niet goed toepasbaar is, en waarin ook aandacht wordt besteed aan de interpretatie, wordt zeer zinvol geacht. Dit geldt ook voor de interpretatie van sterfte in de referentie.

Vanwege de goede resultaten wordt het gebruik van bio-assays voorlopig gecontinueerd.

Bijlage 7 Mesocosm-experiment

Onderstaand wordt een beschrijving gegeven van een deelname aan het mesocosm-experiment van het Staring Centrum.

Inleiding

Bij het Staring Centrum zijn experimenten uitgevoerd in zogenoemde mesocosms. Deze zijn blootgesteld aan een mix van stoffen die in de bollenteelt worden gebruikt (fluazinaam, lambda-cyhalothrin, asulam en metamitron). In deze cosms ($1,2 \times 1,2 \times 0,5$ (H) m = ca. 0,7 m³) is een min of meer natuurlijk ecosysteem aanwezig. Het lag in de bedoeling om de bioassays met kroos en met watervlooien in deze systemen uit te proberen, waarbij de gehalten bestrijdingsmiddelen door het SC gemeten zouden worden. Wegens een doseringsfout van het insecticide lambda-cyhalothrin (10 x te hoge dosering) is het experiment echter stopgezet; om toch een eerste indicatie van de uitvoerbaarheid van de bioassay te verkrijgen is deelgenomen met de watervlooien bioassay, op een moment waarop het insecticide geacht werd te zijn afgebroken tot een realistisch niveau.

Wegens de onverwachte loop van het experiment, moesten de watervlooien onvoorzien op korte termijn door het Hoogheemraadschap van Rijnland worden geleverd; dit betekende dat er op het moment van inzetten van de bioassay slechts ca. 100 moederdieren van 10 dagen oud beschikbaar waren. Uiteindelijk bleken er op het moment van inzetten slecht 50 vlooien in een goede conditie te verkeren, en is in elk van de concentraties één pot met 10 vlooien ingezet. Na één week zijn de potten geoogst en is de overleving bepaald en ook gekeken of er jongen zijn.

Resultaten

In tabel B7.1 staan de resultaten van het mesocosm experiment weergegeven. De resultaten laten zien dat er in de onbehandelde cosm 8 van de 10 watervlooien hadden overleefd, en er ook veel jonge watervlooien werden aangetroffen; daarnaast hadden de moederdieren duidelijk zichtbare eieren. De enige pot waarin ook overleving werd aangetroffen was in de op een na laagste concentratie; hier overleefden 9 van de 10 ingezette moederdieren; er waren echter duidelijk minder jongen en ook werden maar bij 5 van de 9 moederdieren eieren waargenomen. In de twee hoogste concentraties werd geen overleving gevonden; in de laagste concentratie echter ook niet. Er werden geen verschillen in gedrag (bijvoorbeeld stilliggend op de bodem of rondtollend) waargenomen tussen de twee potten; alle dieren gedroegen zich normaal.

Tabel B7.1 Effecten van lambdacyhalothrin op de overleving van watervlooien in mesocosms; op 25-05-99 zijn 10 watervlooien ingezet; - = geen bepaling uitgevoerd.

Theoretisch	Berekend	Gemeten	Gemeten	Gemeten	Gemeten	Overleving	Jongen
	uit dosering	18/5/99	21/5/99	25/5/99	2-6-99	2-6-99	
$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g/l}$	aantal	aantal
0	0,00	< 0,01	< 0,01	n.m.	< 0,01	8	50
0,1	0,09	-	-	< 0,01	< 0,01	0	0
0,25	0,23	0,25	0,01	< 0,01	< 0,01	9	10
1	1,08	-	-	-	-	0	0
2,5	2,62	3,60	0,38	0,20	0,03	0	0

Voor de sterfte in de laagste concentratie kon geen verklaring worden gevonden.

Discussie & conclusies mesocosm-experiment

De moederdieren (ca. 100) werden de middag voor het inzetten opgehaald bij het HHvR en 's nachts in een 250 ml potje (doorlucht) bewaard; de volgende ochtend werden de dieren naar Wageningen vervoerd en ingezet. Bij aankomst bleek de conditie van de watervlooien dermate verminderd dat slechts 50 vlooien konden worden ingezet. Aanbevolen wordt om een groter volume te gebruiken; in latere toetsen bleek dat watervlooien die in een goede conditie verkeren in potten van 750 ml of 1 l, die licht worden doorlucht, vrijwel allen één of twee dagen kunnen overleven. Mogelijk komt er bij doorluchting in een te kleine pot teveel lucht in de *Daphnia*'s; hier kunnen ze slecht tegen.

De bioassay met watervlooien is goed uitvoerbaar en levert ook duidelijke resultaten op. Het inzetten van slechts één pot per monsterpunt maakt vrijwel onmogelijk om onverwachte resultaten te verklaren. Daarom wordt aanbevolen om per monsterpunt twee potten met watervlooien uit te zetten.

Het tellen van de overlevende moederdieren in het veld is in de praktijk goed mogelijk; het vaststellen van het exacte aantal jongen is lastiger, vanwege de grotere aantallen en omdat ze kleiner zijn. Het is echter wel goed mogelijk om een schatting in 10-tallen te maken. Aan de moederdieren is goed te zien of ze al dan geen eieren hebben.

Aangezien moederdieren van 10 dagen oud worden gebruikt, moet een toets van enige omvang minimaal 10 dagen van tevoren worden gepland, als de kweek van beperkte omvang is; het continu in stand houden van een omvangrijke kweek vergt echter meer materiaal, ruimte en grondstoffen en waarschijnlijk ook meer tijd en is dus duurder; het waterschap moet hier een afweging maken tussen kosten en flexibiliteit voor wat betreft de watervlooiendoets.

Bijlage 8 Voorbeelden uit de praktijk

Een aantal waterschappen heeft in de afgelopen ervaring opgedaan met bioassays met water-vlooien. Door de STOWA (1997a) wordt aangegeven dat er (tot 1997) door 7 waterkwali-teitsbeheerders watervlooien veldbioassays zijn toegepast, waarvan er door drie de toets on-bruikbaar vonden omdat er of überhaupt geen effect werd aangetoond, of geen correlatie met het middelengebruik werd gevonden. Onderstaand worden enkele voorbeelden genoemd. Er is niet naar gestreefd om een afdekkend overzicht te geven. Doel van de voorbeelden is het ver-krijgen van een beeld van die aspecten, die van belang zijn voor het vormgeven van de richt-lijn en voor de bruikbaarheid van de toets. De onderzoeken zijn daartoe gescreend op de vol-gende aspecten:

1. Wat was het doel waarmee de bio-assays zijn ingezet.
2. Wat waren de uitkomsten in relatie tot dit doel.
3. Hoe werden de referenties gekozen; wat was de overleving in de referenties.
4. Hoe werd omgegaan met andere factoren dan bestrijdingsmiddelen.
5. Hoe werden de resultaten geïnterpreteerd.
6. Overige punten van belang voor de richtlijn.

Hoogheemraadschap van Schieland: Daphnia-toets 1992 (Bron: Vervoort & Limbeek, 1994).

Samenvatting

In twee polders met glastuinbouw, een ringvaart met een verontreinigde bodem en in "schoon" water, waar echter daphnia's niet voorkomen werden glazen potten met 10 water-vlooien van 9 dagen oud op 12 locaties gedurende het zomerhalfjaar elke maand uitgezet. Met name in de kleinere watergangen in de glastuinbouwgebieden werd grote sterfte gevonden. In de watergang met de verontreinigde bodem en in de "schone" wateren werd in het algemeen een grote overleving gevonden.

1. Doel van het onderzoek was het verkrijgen van een beeld van de ecologische effecten van de met chemische metingen aangetroffen bestrijdingsmiddelen en zware metalen. Een nevendoeel was het leggen van een verband tussen het (chemische) bestrijdings-middelenonderzoek en de daphnia-toets.
2. De daphnia-toets wordt bruikbaar geacht voor het beoordelen van de effecten van toxische stoffen op het ecologisch functioneren van oppervlaktewater. Niet alle toxi-sche stoffen hebben effect op daphnia's in de toetsen. Door gebrek aan kennis over de gevoeligheid van daphnia's voor sommige middelen is een relatie tussen de mid-delen en de effecten in de bio-assays niet altijd te leggen.
3. De monsterpunten zijn gekozen in twee glastuinbouwpolen. Als referentie zouden de aanvoerende kanalen kunnen worden beschouwd. Daarnaast was er een monster-punt in een ringvaart, waar de waterbodemkwaliteit erg slecht was, en waren er mon-sterpunten in de Bergse plassen, waar geen daphnia's voorkomen. Er is in dit onder-zoek niet echt naar referenties gezocht. In een polder werd zowel in de aan- als in de afvoerende kanalen een grote overleving gevonden, terwijl dit in de watergangen tus-sen de kassen niet het geval was.
4. In enkele watergangen werd een dikke laag darmwier aangetroffen. Deze zorgde ervoor dat de potjes nauwelijks licht kregen, waardoor het vermoeden bestaat dat hier sterfte optrad door een gebrek aan voedsel (of zuurstof) voor de daphnia's.

5. De resultaten werden in een tabel gezet, waarbij een grens is gelegd bij meer of minder dan 3 dode (of immobiele) watervlooien. Mede door de herhaling in de tijd ontstaat er zo een beeld van punten waar veel en punten waar weinig effecten optreden. Voor die punten waarbij de overleving sterk wisselde werd een verklaring gezocht in de dikke laag darmwier.
6. ca. 1 op de 10 metingen werden verstoord door nieuwsgierigheid of vandalisme. Verder valt op dat er een vrij grote spreiding in de metingen wordt aangetroffen: in 27 van de 68 geldige metingen overleefden 8 of meer watervlooien; 18 maal overleefden er 2 of minder. 23 keer zit de overleving hier tussenin.

Waterschap Regge en Dinkel (Bron: Scheele, 1998)

Samenvatting

In het betreffende gebied werd in een aantal watergangen met verschillende blootstelling (landbouw, lozing RWZI, textielfabriek, aanvoer, referentie) de biokorf-methode toegepast en vergeleken met fysische chemische metingen en metingen van bestrijdingsmiddelen en metalen. Er bleek veel sterfte in de referentie op te treden, waarschijnlijk door zuurstof gebrek; daarnaast werd er een effect gevonden van een hoog kopergehalte en een lage pH.

1. Het doel van de bio-assays was in dit geval vooral het beantwoorden van de vraag of er met de bio-assays aanvullende informatie boven de fysisch-chemische metingen kon worden verkregen.
2. Door de hoge sterfte in de blanco, vermoedelijk wegens een te laag zuurstofgehalte zijn de resultaten lastig te interpreteren. Wel konden effecten van een hoog kopergehalte worden aangetoond. Er is nog te weinig voldaan aan de randvoorwaarden van de toets.
3. Als referentie werd een gegraven plas in een natuurgebied gekozen. Hier trad echter een met de tijd in het seizoen een toenemende sterfte op. Men acht het zuurstofgehalte hiervoor verantwoordelijk, hoewel dit niet daalde beneden de in hoofdstuk 3 aangegeven marge.
4. Andere factoren dan bestrijdingsmiddelen werden gemeten, en vooral in beschouwing genomen als er een niet op andere wijze te verklaren sterfte optrad.
5. Er is gekeken of er statistisch significante verschillen optreden tussen referentie en overige punten; overigens met een waarschijnlijk niet voldoende statistische methodiek.
6. Uit het onderzoek blijkt duidelijk dat andere factoren ook invloed hebben op de overleving van watervlooien.

Zuiveringschap Hollandse Eilanden en Waarden; De Watervlooiuntoets I en II (Bron: de Geus, 1997, 1998); zie ook verslag interview.

Samenvatting

Naar aanleiding van de goede ervaringen bij Delfland wilde men ook in het gebied van het ZHEW bekijken of de watervlooiuntoets geschikt was. Hiertoe werden punten gekozen in akkerbouwpolders (in- en uitlaatpunt, polder zelf) die werden vergeleken met punten in een natuurgebied. Er werd wel een hogere sterfte in de polder en bij het uitlaatpunt gevonden. De verschillen met de referentie waren een aantal maal significant. Correlaties met de gemeten bestrijdingsmiddelen konden echter vrijwel niet worden aangetoond.

1. Het doel van het inzetten van de bio-assays was het toetsen van de toepasbaarheid van de bio-assays voor het gebied van de ZHEW.
2. Vanwege het ontbreken van een duidelijke relatie tussen de aangetroffen middelen en de

effecten in de toets wordt geconcludeerd dat de toets niet geschikt is als vervanging van de chemische metingen. De toets wordt wel geschikt geacht om de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen globaal te toetsen.

3. Als referentiegebied werden de Korendijkse Slikken gekozen. De sterfte was veelal 0 procent en maximaal 20% (2 van de 10 watervlooien).
4. Er wordt geen melding gemaakt van meting en/of interpretatie van andere factoren. Wel wordt in de discussie gesuggereerd dat andere factoren soms watervlooiensterfte kunnen veroorzaken.
5. De meetresultaten van het blootgestelde gebied werden vergeleken met die van het referentiegebied. Daarnaast werd getracht een relatie te leggen tussen de som bestrijdingsmiddelen, en insecticiden en de sterfte van watervlooien.
6. In een experiment met duplo potten bleek het gemiddelde verschil tussen de potten slechts 11%. Het vergelijken van gesommeerde gehalten bestrijdingsmiddelen of insecticiden met de sterfte van watervlooien is op zich weinig zinvol. Van belang is of er bestrijdingsmiddelen worden aangetroffen in gehalten waarvan effecten verwacht zouden mogen worden.

Hoogheemraadschap van Delfland: Het water uitgevlooid (Gorter & Mangelaars, 1994, Gorter, 1994; zie ook interview).

Samenvatting

In het gebied van het Delfland heeft men de meeste ervaring met het uitvoeren van bio-assays. Er wordt hier een duidelijk effect van het bestrijdingsmiddelengebruik in de glastuinbouw aangetoond. Ook wordt een correlatie gevonden tussen de sterfte van watervlooien in de bio-assays en de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen.

1. De bio-assays worden ingezet omdat in de praktijk niet altijd alle middelen kunnen worden gemeten, en er ook veranderingen in middelengebruik zijn.
2. De toets wordt als een goede graadmeter voor de waterkwaliteit beschouwd.
3. De referenties zijn grotere wateren en plassen, in een wijde kring om het glastuinbouwgebied. De sterfte in de referenties is altijd onder de 20%.
4. Hoe werd omgegaan met andere factoren dan bestrijdingsmiddelen. Andere factoren werden standaard gemeten. Verklaringen voor effecten die niet werden verwacht (hoge sterfte bij lage bestrijdingsmiddelengehalten en omgekeerd) worden eerder gezocht in het feit dat metingen slechts momentopnamen zijn dan in de invloed van andere factoren. In een geval wordt het vermoeden geuit dat de sterfte (mede) wordt veroorzaakt door een hoog zinkgehalte.
5. De verschillen tussen de referentiepunten en de blootgestelde punten zijn zo groot dat een statistische interpretatie niet nodig is. Er wordt echter op basis van de aangetroffen middelen en de toxiciteit voor watervlooien een voorspelling gedaan van de te verwachten overleving, welke vervolgens wordt getoetst aan de werkelijke overleving. Uit deze voorspelling kon een belangrijk deel van de sterfte worden verklaard.
6. In deze studie wordt nadrukkelijk een verband gelegd tussen de toxiciteit van de middelen en de effecten. Deze aanpak zorgt ervoor dat de resultaten zeer goed interpreteerbaar zijn.

RIZA: de Biokorf methode (Kamps-Mulder, 1999).

Samenvatting

Bij het RIZA wordt een methode ontwikkeld om met behulp van een bioassay cohorten of populaties te volgen in het veld. Hiertoe is de Biokorf ontwikkeld. Uitgetest is of de methode

toepasbaar is in het veld, en de gevoeligheid voor een bestrijdingsmiddel is getoetst in mesocosms. De biokorf geeft gevoeliger resultaten dan de standaard laboratoriumtoetsen.

1. Het doel was in dit geval het ontwikkelen van een methode voor het volgen van cohorten of populaties.
2. Het bijbehorende resultaat is dat de methode toepasbaar en gevoelig lijkt.
3. Omdat het hier om een proef in mesocosms ging, betroffen de referenties niet blootgestelde mesocosms. De overleving was hier vrijwel altijd hoog (> 70%), in een geval werd slechts 25% overleving gevonden; hier was er echter slechts 10 cm water in de sloot, en wordt vermoed dat temperatuur of voedselgebrek de sterfte hebben veroorzaakt.
4. Andere factoren zijn bepaald, vooral om te bekijken of er een samenhang was tussen het toegediende middel (dimethoaat) en de fysisch chemische parameters. De invloed van deze parameters op de overleving van de watervlooien is niet onderzocht.
5. Omdat er hier sprake was van een experimentele opzet, kon een dosis-effect relatie worden opgesteld en een LC50 worden berekend.

LITERATUUR

- Adriaanse, P.I., W.H.J. Beltman, E. Westein, W.W.M. Brouwer & S. van Nierop (1997). A proposed policy for differentiated hazard evaluation of pesticides in surface waters. Exposure concentrations simulated by TOXSWA and ecotoxicological hazards of pesticides in field ditches and main watercourses. DLO Staring Centrum. Report 141, Wageningen.
- Aldenberg, T. & W. Slob (1993). Confidence limits for hazardous concentrations based on logistically distributed NOEC toxicity data. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 25: 48-63.
- AquaSense (1995). Ecotoxicologische waardering van oppervlaktewater; Vergelijking van testkists voor ecotoxicologische monitoring van oppervlaktewater in het Hoogheemraadschap van Rijnland. AquaSense afstudeerrapport 95.0705, Amsterdam.
- Beltman, W.J.H. & P.I. Adriaanse (1999). Proposed standard scenarios for a surface water model in the Dutch authorization procedure of pesticides: method to define standard scenarios determining exposure concentrations simulated by the TOXSWA model. DLO Winand Staring Centre. Report 161, Wageningen.
- Canthers, K.J., G.R. de Snoo, F.M.W. de Jong & J. van der Linden (1990). Side effects of pesticides on terrestrial invertebrates and aquatic fauna. CML Report 46, Leiden.
- CBS (1995). De Landbouwtelling 1995 (veehouderij, akkerbouw, tuinbouw en arbeid). Misset uitgeverij b.v., Doetinchem.
- CBS (1997). Gewasbescherming in de land- en tuinbouw, 1995. Centraal Bureau voor de Statistiek, Voorburg/Heerlen.
- CIW (1999). Bestrijdingsmiddelenrapportage (1999). Het voorkomen van bestrijdingsmiddelen in het Nederlandse oppervlaktewater in de periode 1992 t/m 1996. Werkgroep V van Commissie Integraal Waterbeheer.
- CLM (1997). Milieumeetlat voor bestrijdingsmiddelen. Centrum voor Landbouw en Milieu, Utrecht.
- DHV (1995). Studie modellering Afgedamde Maasbekken. Dossier K8063-01-001. In: Stäb, J.A. en R. Looijen (1996). Inventarisatie Bestrijdingsmiddelengebruik in de Bommelerwaard. Laboratorium Duinwaterbedrijf Zuid Holland. Conceptrapport 00792000, Voorburg.
- Hornsby A.G., R.D. Wauchope & A.D. Herner (1996). Pesticide properties in the environment. Springer-Verlag Inc, New York.
- Geus, J.G. de (1997). De watervlooiëntoets. Een oriënterend onderzoek naar de bruikbaarheid in akkerbouw gebieden. Laboratorium Eijkpunt, Mookhoek.
- Geus, J.G. de (1998). De watervlooiëntoets II. Een vervolgonderzoek naar de bruikbaarheid in akkerbouw gebieden. Laboratorium Eijkpunt, Mookhoek.
- Gorter, M. & J. Mangelaars (1994). Het water uitgevlood. Hoogheemraadschap van Delfland, Delft.
- Gorter, M. (1994). Vervolgonderzoek Poelpolder. Hoogheemraadschap van Delfland, Delft.
- Grossman, K., R. Berghaus & G. Retzlaf (1992). Heterotrophic plant cell suspension cultures for monitoring biological activity in agrochemical research. Comparison with screens using algae, germinating seeds and whole plants. *Pestic. Sci.* 35: 283-289.
- INS-notitie (1997). Notitie Integrale Normstelling Stoffen, Interdepartementale Werkgroep Integrale normstelling Stoffen. Min. VROM not. 97759/h/12-97, Den Haag.
- Jong, F.M.W. de & W.F. Bergema (1994). Field Bioassays for side-effects of pesticides. CML report 112, Leiden.
- Jong, F.M.W. de (1995). Framework for field trials for side-effects of pesticides, CML report 117, Leiden.

- Kamps-Mulder, M.A.A.J., 1999. Methode-ontwikkeling voor het bepalen van effecten van microverontreinigingen op aquatische organismen onder veldomstandigheden. RIZA werkdokument 99.136X, Lelystad.
- Lahr, J. P.J. van den Brink & T.C.M. Brock (1998). Ecologische risico's van bestrijdingsmiddelen in zoetwater ecosystemen, deel 1: herbiciden. SC-DLO, STOWA rapport 98-30.
- Linders J.B.J.H., J.W. Jansma, B.J.W.G. Mensink & K. Otterman (1994). Pesticides; Benefaction or Pandora's box. A synopsis of the environmental aspects of 243 pesticides. RIVM Report 679101014, Bilthoven.
- Maas, J.L. & M.A.A.J. Kamps (1998). Effecten op populaties van *Daphnia magna* van een combinatie aan bestrijdingsmiddelen op MTR-niveau. WSCE-rapport: 98-02, RIZA, Lelystad.
- Merkelbach, R.C.M., R.A. Smidt, R. Kruijne, S.J.H. Crum, J.W. Deneer, P.C. Leendertse (1999). Belasting van de Afgedamde Maas met bestrijdingsmiddelen en meststoffen. DLO-Staring Centrum. Rapport 676, Wageningen.
- Rijn, J.P. van, N.M. van Straalen & J. Willems (1995). Handboek bestrijdingsmiddelen gebruik & milieu-effecten. VU Boekhandel/Uitgeverij b.v., Amsterdam.
- Scheele, J. (1998). De bruikbaarheid van het semi chronische veldexperiment met de watervlo *Daphnia magna*. Stageverslag Hogeschool IJsselland. Waterschap Regge en Dinkel.
- Smidt, R.A., G. Bor, R.C.M. Merkelbach, J. Denneboom & R. Kruijne, in voorbereiding. Conceptuele beschrijving van het Informatie Systeem Bestrijdingsmiddelen ISBEST 3.0. DLO Winand Staring Centrum. Interne Mededeling 569, Wageningen.
- STOWA (1992a). Ontstaan en bestrijden van deklagen van kroos. 1. Literatuur. STOWA, 92-09, Utrecht.
- STOWA (1992b). Ontstaan en bestrijden van deklagen van kroos. 2. Modelmatige benadering van de kroosontwikkeling en beoordeling van beheersbaarheid. STOWA, 92-10, Utrecht.
- STOWA (1993a). Ecologische beoordeling en beheer van oppervlaktewater. Beoordelings-systeem voor sloten op basis van macrofyten, macrofauna en epifytische diatomeeën. STOWA, 93-14, Utrecht.
- STOWA (1993b). Ecologische beoordeling en beheer van oppervlaktewater. Wetenschappelijke verantwoording van het beoordelingssysteem voor sloten. STOWA, 93-15, Utrecht.
- STOWA (1996). Relatie tussen bestrijdingsmiddelen en biota in oppervlaktewater. STOWA rapport 96-16, Utrecht; CML rapport 127, Leiden.
- STOWA (1997a). Biomonitoringstechniek voor bestrijdingsmiddelen en zware metalen in watersystemen. Deel 1: inventarisatie en selectie van geschikte technieken. STOWA, rapport 97-08, Utrecht.
- STOWA (1997b). Biomonitoringstechniek voor bestrijdingsmiddelen en zware metalen in watersystemen. Deel 2: Keuzesysteem en praktijktoetsing. STOWA, rapport 97-27, Utrecht.
- Tomlin, C. (ed.) (1998). The pesticide manual, 11th edition. Bath, The British Crop Protection Council and The Royal Society of Chemistry. The Bath Press.
- Vervoort, E.W.G. & M.C.E. Limbeek (1994). *Daphnia*-toets in het beheersgebied van Schieland 1992. Hoogheemraadschap van Schieland, Rotterdam.
- Vliet, P. van & W. Tas (December 1996). Driftemissiepercentages oppervlaktewater (aangepast concept). CTB, Wageningen.
- Wassenburg, D.A.J. (1999). Bestrijdingsmiddelen in de bollenstreek. Onderzoek naar de effecten van drift en erflozingen op kwaliteit van het oppervlaktewater. Stageverslag Hogeschool Delft, Delft.

- Westein, E., M.J.W. Jansen, P.I. Adriaanse & W.H.J. Beltman (1998). Sensitivity analysis of the TOXSWA model. DLO Winand Staring Centre, Report 153, Wageningen.
- Zande, J.C. van de, H.A.J. Porskamp & J.F.M. Huijsmans (1997). Literatuurstudie naar de drift van spuitvloeistof bij bespuitingen in de fruitteelt, de volveldsteelten en de boomteelt. IMAG-DLO. Rapport P97-34, Wageningen.